

Załącznik nr 2.

do wniosku z dnia 3 kwietnia 2019 roku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie stomatologia dr n. med. Katarzyny Szczeklik

## Autoreferat

### 1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Katarzyna Szczeklik  
Miejsce pracy: Zakład Stomatologii Zintegrowanej, Instytut Stomatologii  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,  
ul. Montelupich 4, 31-155 Kraków, Polska  
Zajmowane stanowisko: Adiunkt

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe - z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

1996 r. Świadectwo dojrzałości - I Liceum Ogólnokształcące im. Bartłomieja Nowodworskiego w Krakowie  
2001 r. Dyplom lekarza stomatologa - Oddział Stomatologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie  
2011 r. Dyplom doktora nauk medycznych w dyscyplinie stomatologia uzyskany na podstawie pracy doktorskiej pt. "Zmiany chorobowe w jamie ustnej a stężenie w ślinie wybranych cytokin u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna". Wydział Lekarski Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie. Promotor: prof. dr hab. med. Jan Zapąła. Recenzenci: prof. dr hab. med. Zofia Knychalska - Karwan, prof. dr hab. med. Wiktor Łaszewicz.  
2011 r. Dyplom specjalisty w dziedzinie Stomatologia zachowawcza z endodoncją, kierownik specjalizacji: prof. dr hab. Joanna Zarzecka, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

1.10.2001-31.09.2002 Staż podyplomowy - Wojewódzka Przychodnia Stomatologiczna, Kraków, ul. Batorego 3, oddelegowanie do Miejskiego Centrum Stomatologii – Śródmieście w Krakowie  
Od 1.10.2002 r. - Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie, Wydział Lekarski, Instytut Stomatologii (IS UJ CM)

- 1.10.2002 – 26.04.2004 Asystent - Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej  
IS UJ CM
- 27.04.2004 – 31.08.2009 Asystent - Pracownia Stomatologii  
Zachowawczej z Endodoncją IS UJ CM
- Od 1.09.2009 – 30.09.2012 Starszy asystent - Zakład Propedeutyki Stomatologicznej i  
Stomatologii Zintegrowanej IS, UJ CM, przekształcony w 2010 r.  
w Zakład Stomatologii Zintegrowanej IS UJ CM
- Od 1.10.2012 – nadal Adiunkt - Zakład Stomatologii Zintegrowanej IS UJ CM,  
pełniona funkcja: Zastępca Kierownika Zakładu

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz.U. z 2016 r. poz. 1311):**

**a) tytuł osiągnięcia naukowego**

**"Badania wybranych biomarkerów aktywności antyoksydacyjnej w ślinie i krwi chorych z zaostrzeniem choroby Leśniowskiego-Crohna"**

Przedmiotem osiągnięcia naukowego jest jednotematyczny cykl 3 prac oryginalnych i 1 przeglądowej. Prace oryginalne zostały opublikowane w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR. Łączny współczynnik IF wynosi **8,639**, liczba punktów **MNiSW 95**.

We wszystkich publikacjach jestem pierwszym autorem, a w trzech (poz. 2, 3 i 4) autorem do korespondencji.

**b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)**

- 1. Szczeklik K, Krzyściak W, Domagała-Rodacka R, Mach P, Darczuk D, Cibor D, Pytko-Polończyk J, Rodacki T, Owczarek D. Alterations in glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in plasma and saliva in relation to disease activity in patients with Crohn's disease. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2016 Oct; 67(5): 709-715.**

**Impact Factor: 2.883, punktacja MNiSW: 25.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji projektu, analizie problemu w literaturze medycznej, pobieraniu materiału (ślina) od pacjentów, interpretacji wyników analizy statystycznej, współdziałanie w napisaniu manuskryptu i przygotowaniu do druku. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

- 2. Szczeklik K, Krzyściak W, Cibor D, Domagała-Rodacka R, Pytko-Polończyk J, Mach T, Owczarek D. Markers of lipid peroxidation and antioxidant status in the serum and saliva of patients with active Crohn disease. *Polish Archives of Internal Medicine* 2018 Jun 30; 128(6): 362-370. **Impact Factor: 2.658, punktacja MNiSW: 30.****

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji projektu, pobieraniu materiału do badań (ślina), współudziale w analizie i interpretacji danych, napisaniu wstępnej wersji manuskryptu, współudziale w przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redaktorem i odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

**3. Szczeklik K, Mach T, Cibor D, Owczarek D, Sapa J, Papież M, Pytko-Polończyk J, Krzyściak W.** Correlation of paraoxonase-1 with Crohn's disease severity. **Molecules** 2018 Oct 11; 23(10). pii: E2603. **Impact Factor: 3.098, punktacja MNiSW: 30.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, analizie problemu w literaturze medycznej, zebraniu wyników badań klinicznych i biochemicznych, interpretacji wyników analizy statystycznej, napisaniu wstępnej wersji manuskryptu, współudziale w przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redaktorem i odpowiedzi na recenzje. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

**4. Szczeklik K, Krzyściak W.** Od uszkodzeń miejscowych do narządowych - konsekwencje zaburzeń równowagi pomiędzy produkcją reaktywnych form tlenu a sprawnością układów antyoksydacyjnych w chorobie Leśniowskiego-Crohna. **Przegląd Lekarski** 2019; 76 (1): 638-644. Praca pogładowa. **Punktacja MNiSW: 10.**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, analizie problemu w literaturze medycznej i interpretacji danych literaturowych, współudziale w przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

W załączeniu:

- 1) Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (Załącznik nr 4)
- 2) Oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie autorskim (Załącznik nr 5)

**c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

## **Wprowadzenie**

Choroba Leśniowskiego - Crohna (ChL-C) wraz z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG) należą do nieswoistych chorób zapalnych jelit (NZJ). ChL-C rozpoznajemy na podstawie wywiadu, który wskazuje na przewlekły charakter dolegliwości z okresami zaostrzeń (choroba aktywna) i wyciszenia objawów (choroba nieaktywna, remisja), badania przedmiotowego i badań endoskopowych, histopatologicznych, radiologicznych, w połączeniu z badaniami biochemicznymi, immunologicznymi i mikrobiologicznymi [1]. ChL-C rozpoczyna się zwykle w młodym wieku i ma istotny wpływ na jakość życia chorych, na decyzje dotyczące wyboru zawodu, ich życie rodzinne i prokreację. Częstość występowania ChL-C i WZJG narasta, zwłaszcza w krajach uprzemysłowionych, najwięcej zachorowań rejestruje się w

krajach Ameryki Północnej i Europy, ale w krajach rozwijających się obserwuje się także wzrost rozpoznania [2, 3].

Leczenie zachowawcze NZJ, w tym ChL-C, obejmuje leki przeciwzapalne - aminosalicylany (sulfasalazyna, mesalazyna), glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne (np. azatiopryna, merkaptopuryna, metotreksat i inne), leki biologiczne (infliksymab, adalimumab, wedolizumab i inne) oraz w powikłaniach septycznych antybiotyki [1]. Leczenie operacyjne ChL-C stosuje się, gdy farmakoterapia jest nieskuteczna lub nietolerowana, gdy pojawiają się komplikacje, jak niedrożność, perforacja przewodu pokarmowego, przetoki, stany przedrakowe lub rak [1].

Aktywna ChL-C charakteryzuje się takimi objawami, jak ból brzucha, utrata masy ciała, biegunka, niekiedy gorączka oraz poważnymi powikłaniami, jak niedożywienie, niedokrwistość, zwężenia jelit, przetoki i ropnie wewnątrz jamy brzusznej. Badania laboratoryjne oceniane u pacjentów z ChL-C obejmują m.in. CRP (biochemiczny marker zaostrzenia choroby), przydatny w ocenie nasilenia zapalenia i monitorowania aktywności choroby [1]. Natomiast w praktyce klinicznej przy kwalifikacji chorych do leczenia biologicznego, a także w pracach naukowych, obliczany jest wskaźnik aktywności choroby (CDAI), który uwzględnia objawy kliniczne i niektóre parametry laboratoryjne, a którego wartość poniżej 150 punktów oznacza remisję choroby, a wartości wyższe aktywny proces zapalny [1].

W przebiegu ChL-C występują także objawy pozajelitowe, dotyczące innych narządów, jak skóry, wątroby, układu kostno-stawowego, ale także jamy ustnej. W obrębie jamy ustnej mogą pojawić się zmiany z różną częstością u dorosłych, od 5% do 50%, nieco wyższą u dzieci. Charakteryzują się szerokim spektrum manifestacji i najczęściej są powodowane zakażeniem, niedoborami żywieniowymi, niekorzystnym wpływem leków. Te zmiany mogą pojawić się także w innych chorobach i w populacji ogólnej. Natomiast znacznie rzadsze są inne, uważane za swoiste dla ChL-C, które zawierają ziarniniaki nieserowaciejące w biopsjach błony śluzowej jamy ustnej, do których zalicza się głębokie, linijne owrzodzenia, brukowanie błony śluzowej, obrzęk i zapalenie błony śluzowej jamy ustnej i warg. Zmiany te w jamie ustnej mogą wyprzedzać pojawienie się typowych objawów z przewodu pokarmowego lub mogą wystąpić w tym samym czasie co objawy ChL-C. Ujawnienie ich obecności jest ważne w postępowaniu diagnostycznym ze względu na łatwy dostęp podczas badania fizykalnego, charakterystyczne cechy kliniczne i możliwość pobrania wycinka do badania histopatologicznego. W jednej z publikacji wykazałam związek między obecnością zmian w jamie ustnej a aktywnością ChL-C [4]. W zaostrzeniu choroby korelowały one z nasileniem procesu zapalnego, ze stopniem niedokrwistości, zwiększoną liczbą płytek, wyższym stężeniem CRP i mniejszymi wartościami BMI chorych.

Jednymi z ważniejszych zaburzeń biorących udział w patofizjologii NZJ, w tym ChL-C, są stres oksydacyjny i czynniki immunoregulacyjne. Według tej teorii NZJ są związane z nadprodukcją reaktywnych form tlenu (ROS) i reaktywnych form azotu (RNS), co prowadzi odpowiednio do stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego [5]. ROS i RNS są modulowane w normalnych warunkach przez różne substancje określane przeciwutleniaczami, które

zapobiegają szkodliwym wpływom ROS na makrocząsteczki (białka, lipidy, kwasy nukleinowe), których dalsze uszkodzenia oksydacyjne mogą przyczyniać się do rozwoju i postępu chorób. ROS są wytwarzane przez rezydentne komórki fagocytujące, komórki śródbłonna mikronaczyniowego i komórki nabłonka błony śluzowej. Ponadto aktywowana cyklooksygenaza i lipooksygenaza wytwarzają ROS i są odpowiedzialne za sekrecję szeregu prozapalnych cytokin (np. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8) i innych aktywnych cząsteczek prowadzących do uszkodzenia komórek [6]. Zwiększona produkcja ROS uszkadza wielonienasycone kwasy tłuszczowe, indukując peroksydację lipidów i uszkodzenia oksydacyjne. Peroksydacja lipidów bierze udział w patogenezie wielu chorób zapalnych, w tym NZJ i nowotworów złośliwych. Podczas peroksydacji lipidów wytwarzane są substancje reagujące z aldehydem (m.in. MDA - malonodialdehyd), które służą do wykrywania zmian w stresie oksydacyjnym [5-7]. Antyoksydacyjne mechanizmy obronne, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa (GPx), całkowita zdolność antyoksydacyjna mierzona za pomocą zdolności redukcji kationu żelazowego (FRAP), glutation (GSH), katalaza (CAT), paraoksonaza 1 (PON-1) i szereg innych (np. bilirubina, albumina), ograniczają uszkodzenie komórek indukowane przez ROS. Zarówno MDA, jak i FRAP są często oznaczane w pracach dotyczących peroksydacji lipidów i obrony antyoksydacyjnej w różnych chorobach [8].

Przewlekły stres oksydacyjny w ChL-C wpływa na przebieg choroby i wiąże się z pewnymi jej charakterystycznymi cechami i powikłaniami [9]. Określenie markerów stresu oksydacyjnego wymaga zastosowania technik inwazyjnych, jak pobieranie krwi, natomiast użycie ludzkiej śliny jest nieinwazyjną alternatywą. Ślina zawiera wiele substancji biochemicznych, które odzwierciedlają miejscowe i układowe choroby i mogą ułatwić ich rozpoznanie, rokowanie i reakcję na leczenie. Dlatego identyfikacja markerów stresu oksydacyjnego w ślinie chorych z ChL-C może mieć implikacje kliniczne.

Moje zainteresowanie ChL-C, jako lekarza stomatologa, sięgają wczesnych lat pracy zawodowej, gdy asystowałam lekarzom specjalistom chorób błony śluzowej jamy ustnej w Poradni Instytutu Stomatologii UJ CM w Krakowie podczas konsultacji chorych z NZJ. Konsultacje dotyczyły zmian w zakresie błony śluzowej jamy ustnej i tkanek twardych oraz poszukiwania ognisk zapalnych, które musiały być wyleczone przed planowaną terapią immunosupresyjną lub biologiczną. Natomiast w zakresie mojej działalności naukowej to interdyscyplinarne podejście do NZJ, obejmowało poza doskonaleniem metod rozpoznawania chorób jamy ustnej w NZJ i oceny ich zaawansowania i leczenia, zainteresowanie śliną, jako jednym z płynów ustrojowych łatwo pobieranych metodami nieinwazyjnymi i analizowania zachowania się w niej wybranych wskaźników procesu zapalnego u chorych z różnym fenotypem ChL-C. Podjęta przeze mnie współpraca z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii WL UJ CM zaowocowała wspólnymi publikacjami kazuistycznymi, oryginalnymi i poglądowymi dotyczącymi problemów stomatologicznych u chorych z NZJ, a zwłaszcza ChL-C. W ostatnich latach podjęłam też badania nad stresem oksydacyjnym u chorych z ChL-C we współpracy z Zakładem Diagnostyki Medycznej Wydziału Farmacji UJ CM, których celem było poszukiwanie potencjalnych biomarkerów aktywności tej choroby we krwi, ale także w ślinie chorych.

## **Cel naukowy prac stanowiących temat osiągnięcia naukowego**

Celem cyklu trzech prac oryginalnych, stanowiącego osiągnięcie naukowe, była analiza wskaźników biochemicznych stresu oksydacyjnego i aktywności antyoksydacyjnej we krwi i ślinie chorych z ChL-C, ze szczególnym uwzględnieniem okresu zaostrzenia procesu zapalnego, poszukiwanie nowych markerów stresu oksydacyjnego, które mogą być przydatne w praktyce, szczególnie zwracając uwagę na ich oznaczanie w ślinie, jako płynie łatwo dostępnym i pobieranym metodami nieinwazyjnymi. Ponadto zamierzałam określić związek pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną osocza krwi mierzoną stężeniem PON-1 a ciężkością ChL-C ocenianą za pomocą parametrów klinicznych i wskaźników stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego. Zamierzałam też zweryfikować hipotezę dotyczącą zmian w zachowaniu się aktywności PON-1, lipidów osocza i markerów stanu zapalnego, jako potencjalnych czynników powikłań zakrzepowo-zatorowych w przewlekłej chorobie zapalnej, jaką jest ChL-C. Dotychczasowe dane wskazują bowiem na dość częste i niezwykle ważne rokowniczo tego typu powikłania w ChL-C.

Celem pracy poglądowej było omówienie roli stresu oksydacyjnego w NZJ, szczególnie w ChL-C, i dotychczasowej wiedzy na temat potencjalnych możliwości zastosowania markerów aktywności antyoksydacyjnej we krwi i ślinie chorych w rozpoznawaniu zaostrzenia i monitorowaniu aktywności klinicznej tej choroby.

## **Materiał badawczy**

Badania przedstawione w trzech publikacjach oryginalnych prowadziłam prospektywnie we współpracy z Oddziałem Klinicznym Gastroenterologii i Hepatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w latach 2014-2017. Kwalifikowałam do badań chorych z wcześniej rozpoznaną ChL-C wg obowiązujących kryteriów, zarówno w okresie zaostrzenia (aktywna ChL-C), jak i remisji (nieaktywna ChL-C) [1]. Chorzy byli leczeni przewlekłe azatiopryną (2,0-2,5mg/kg/dobę) zgodnie z wytycznymi ECCO [1], a pacjenci ze zmianami zapalnymi w okrężnicy i regionie krętniczo-kątnicznym otrzymywali dodatkowo mesalazynę (2g/dzień). W badaniach uwzględniłam też grupę kontrolną złożoną z zdrowych ochotników w podobnym wieku i w zbliżonej proporcji płci do grup badanych. Badania przeprowadziłam po uzyskaniu wcześniejszej akceptacji protokołu badawczego przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (KBET/200/B/2014) i świadomej, pisemnej zgody pacjentów.

W publikacji 1 badania przeprowadziłam u 47 chorych z ChL-C (średni wiek 32 lata), w tym u 25 z aktywną i 22 z nieaktywną chorobą. Grupę kontrolną stanowiło 25 zdrowych ochotników (średni wiek 34,2 lata).

W publikacji 2 badania przeprowadziłam u 58 chorych, w tym u 32 z aktywną ChL-C i 26 z nieaktywną chorobą (remisja) oraz u 26 osób grupy kontrolnej.

W publikacji 3 badania przeprowadziłam u 58 chorych z ChL-C, w tym 19 w okresie remisji, 14 z umiarkowaną aktywnością i 14 z niską aktywnością choroby mierzoną wskaźnikiem CDAI. Grupę kontrolną stanowiły 23 osoby grupy kontrolnej.

## Metodyka badań

Próbki krwi i śliny pobierane były od uczestników badań na czczo w godzinach porannych. Ślinę mieszaną niestymulowaną pobierałam metodą odpluwania przez 15 min., a ślinę stymulowaną pobierałam za pomocą systemu Salivette® (Sarstedt AG & Co., Niemcy). Po odwirowaniu klarowny supernatant śliny rozdzielałam do mikropróbówek typu Eppendorf i zamrażałam (temp.  $-80^{\circ}\text{C}$ ) w do czasu oznaczeń.

W pracach wykorzystałam następujące metody badawcze:

- badania kliniczne obejmowały: (1) szczegółowy wywiad choroby z uwzględnieniem czasu trwania choroby, jej przebiegu, obecności powikłań, stosowanego rodzaju leczenia (farmakoterapia, zabieg operacyjny), (2) badanie przedmiotowe, w tym obliczenie wskaźnika masy ciała (BMI; masa ciała w kg/wzrost w  $\text{m}^2$ ), (3) zebranie wyników ostatnio wykonanych u chorych - badań endoskopowych i obrazowych (enterografia rezonansu magnetycznego) oceniających lokalizację zmian zapalnych;

- obliczenie aktywności ChL-C przy pomocy wskaźnika aktywności choroby (CDAI). Wartości CDAI  $\leq 150$  pkt wskazują na remisję choroby, a wartości  $\geq 150$  pkt wskazują na aktywną chorobę, w tym 150-219 pkt oznacza łagodne zaostrzenie, 220-450 - umiarkowane, a ponad 450 pkt - ciężkie zaostrzenie ChL-C [1];

- badania laboratoryjne: pełna morfologia krwi, liczba płytek krwi, hematokryt, stężenie hemoglobiny i białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy i dodatkowo w publikacji nr 3 – stężenie cholesterolu całkowitego (TC), trójglicerydów (TG), lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) i lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) w surowicy, które wykonywano w szpitalnym laboratorium;

- badanie aktywności peroksydazy glutationowej (GPx) - przedstawione w publikacji 1 - mierzono w osoczu i ślinie za pomocą testu kolorymetrycznego przy użyciu zestawu do oznaczania peroksydazy glutationowej (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, USA) zgodnie z instrukcją producenta. Absorbancję monitorowano przy długości fali 340 nm, jedna jednostka GPx była definiowana jako ilość enzymu powodującego utlenianie od 1 nM NADPH do NADP + na min. w temp.  $25^{\circ}\text{C}$ ;

- badanie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) - przedstawione w publikacji 1 - mierzono w osoczu i ślinie za pomocą testu kolorymetrycznego przy użyciu zestawu do oznaczania dezoksy-ponadtlenku (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, USA) zgodnie z instrukcją producenta. Absorbancję monitorowano przy 440-460 nm za pomocą spektrofotometru (FLUOstar Omega; BMG Labtech, Niemcy);

- badanie stężenia malonodialdehydu (MDA) - przedstawione w publikacji 2 - mierzono w osoczu i ślinie metodą kolorymetryczną według Buege i Austa na podstawie reaktywności kwasu tiobarbiturowego (TBA). MDA określono ilościowo na podstawie reakcji z TBA i pomiaru

wytworzonego różowego chromoforu na spektrofotometrze (FLUOstar Omega; BMG Labtech, Niemcy). Stężenie MDA wyrażono jako nmol/mg białka;

- badanie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej - przedstawione w publikacji 2 - mierzono w osoczu i ślinie za pomocą FRAP według metody opisanej przez Benzie i wsp. Wartości FRAP wyrażono jako mmol/mg białka;

- badanie stężenia glutationu (GSH) - przedstawione w publikacji 2 - mierzono za pomocą metody Ellmana, która opiera się na reakcji tioli z chromogenem kwasem 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoesowym, w wyniku czego mierzy się tworzenie żółtego dianionu tego kwasu. Absorbancję odczytano 5 minut po wprowadzeniu supernatantu w temperaturze pokojowej przy długości fali 412 nm na spektrofotometrze. Stężenia GSH wyrażono jako nmol/mg białka;

- badanie stężenie białka całkowitego - przedstawione w publikacji 2 - oznaczano metodą kwasu biwinchonowego zgodnie z instrukcjami producenta (Sigma-Aldrich, USA), z albuminą surowicy bydłowej jako standardem. Absorbancję badano przy długości fali 562 nm w 37°C na spektrofotometrze, wyznaczano krzywą kalibracyjną, a stężenie białka wyrażano w mg/ml;

- badanie aktywności katalazy (CAT) - przedstawione w publikacji 2 - oznaczano w leukocytach, które izolowano z krwi pełnej przez odwirowanie w gradiencie gęstości Histopaque 1,077 g/ml. Aktywność CAT mierzono przy użyciu zestawu do oznaczania aktywności katalazy (Randox Laboratories Ltd, Londyn, Wielka Brytania) zgodnie z instrukcją producenta;

- badanie aktywności paraoksonazy 1 (PON-1) w osoczu - przedstawione w publikacji 3 - wykonywano według metody Eckersona i wsp. Próbkę osocza rozcieńczono w buforze glicynowym (pH 10,5), inkubowano, dodawano do mikropłytek, dodawano paraokson i monitorowano absorbancję (przy 405 nm). Wyniki wyrażono w jednostkach międzynarodowych U/litr;

- wszystkie analizy statystyczne zostały przeprowadzone z zastosowaniem licencjonowanych pakietów statystycznych. W publikacjach użyto programów: Statistica wersja 10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA; publikacja nr 1 i nr 2); SPSS wersja 22.0 dla Windows (SPSS, Chicago, IL, USA; publikacja nr 2) oraz pakietu R wersja 3.5.0 (Wiedeń, Austria; publikacja nr 3). Dane wyrażono jako wartości procentowe dla zmiennych jakościowych, średnie z odchyleniami standardowymi dla zmiennych ciągłych o rozkładzie normalnym oraz jako mediany o zakresach międzykwartylowych dla nieregularnie rozłożonych zmiennych ciągłych. Testem Shapiro-Wilka badano normalność rozkładu danych i testem t-Studenta analizowano wyniki z rozkładem Gaussa. Do porównania zmiennych między grupami zastosowano nieparametryczne testy U Manna-Whitney'a, test Chi<sup>2</sup>, test ANOVA (Kruskala-Wallis). W przypadku istotnego statystycznie wyniku testu ANOVA wykonano analizę post-hoc - test Dunna. Powiązania między wieloma zmiennymi oceniono za pomocą współczynnika korelacji rang Spearmana. W publikacjach nr 2 i nr 3, gdzie badano użyteczność diagnostyczną wskaźników stresu oksydacyjnego, obliczano krzywe ROC, a charakterystykę markera wyrażono jako pole pod krzywą ROC (AUC) i określano czułość i swoistość wskaźnikiem Youdena. Istotność statystyczną określano jako  $p < 0,05$ .



## Omówienie poszczególnych publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

### Publikacja 1.

**Szczeklik K, Krzyściak W, Domagła-Rodacka R, Mach P, Darczuk D, Cibor D, Pytko-Polończyk J, Rodacki T, Owczarek D.** Alterations in glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in plasma and saliva in relation to disease activity in patients with Crohn's disease. **Journal of Physiology and Pharmacology** 2016 Oct; 67(5): 709-715. IF: 2.883, punktacja MNiSW: 25.

Etiopatogeneza ChL-C nie jest do końca poznana, uwzględnia się interakcję między czynnikami genetycznymi, immunologicznymi, środowiskowymi i zaburzeniami mikrobiomu [1]. ChL-C wiąże się z brakiem równowagi pomiędzy zwiększonym uwalnianiem wolnych rodników tlenowych i azotowych a zmniejszoną aktywnością antyoksydacyjną, co skutkuje zjawiskiem stresu oksydacyjnego [5-9]. Stres ten jest uważany za istotny czynnik patogenetyczny ChL-C, a jego przewlekanie się może wpływać na przebieg choroby. Badania stresu oksydacyjnego u chorych może wymagać technik inwazyjnych, takich jak pobieranie próbek krwi, ale eksploracja śliny, jako innego płynu ustrojowego, który też odzwierciedla stan oksydacyjno-redukcyjny organizmu, może mieć implikacje kliniczne.

Celem moich badań była ocena enzymów antyoksydacyjnych dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx) zarówno w osoczu, jak i w ślinie chorych z aktywną i nieaktywną postacią ChL-C, a także porównanie aktywności tych enzymów z cechami klinicznymi chorych. Badani chorzy z aktywną ChL-C mieli niższą liczbę krwinek czerwonych i stężenie hemoglobiny we krwi, większą liczbę płytek krwi i wyższe stężenie CRP w surowicy w porównaniu z pacjentami z nieaktywną ChL-C i grupą kontrolną. Chorzy z aktywną ChL-C mieli istotnie niższą aktywność antyoksydacyjną mierzoną przy pomocy SOD w osoczu, ale nie w ślinie, w porównaniu do chorych w remisji i grupy kontrolnej. Natomiast aktywność GPx w osoczu i ślinie chorych obu grup ChL-C i w kontroli nie różniły się istotnie. Wykazałam, że aktywność zarówno SOD, jak i GPx była znacząco niższa w ślinie w porównaniu do osocza. Chociaż czas trwania choroby korelował dodatnio z aktywnością GPx w osoczu, takich zależności nie obserwowano w odniesieniu do SOD.

Aktywność SOD w osoczu była zależna od BMI chorych, lecz takich zależności nie stwierdziłam w przypadku SOD i GPx w ślinie i GPx w osoczu. Stwierdziłam, że chorzy z wyższą aktywnością choroby mierzoną wskaźnikiem CDAI i stężeniem CRP oraz liczbą płytek krwi mieli obniżoną siłę antyoksydacyjną, a więc niższą aktywność SOD w osoczu i ślinie w porównaniu do chorych w remisji. Podobnych zależności w przypadku aktywności GPx w obu płynach ustrojowych nie obserwowalam. W badaniach tych nie wykazałam związku między aktywnością SOD i GPx w osoczu i ślinie z lokalizacją zmian zapalnych w ChL-C.

Uzyskane w moich badaniach wyniki wskazują, że w aktywnej ChL-C system obrony antyoksydacyjnej jest zmniejszony i powraca w okresie remisji choroby do wartości zbliżonych do grupy kontrolnej. Ponadto wykazałam zależność pomiędzy zachowaniem się aktywności SOD z CRP, liczbą płytek krwi i BMI. Zmiany zachowania się SOD w osoczu potwierdziły

wcześniejsze doniesienia, że w aktywnej ChL-C układ antyoksydacyjny jest osłabiony, a pomiar SOD może mieć zastosowanie jako inny marker prognostyczny związany z reakcjami stresu oksydacyjnego u pacjentów z ChL-C. W tym badaniu przeprowadziłam równoległą ocenę aktywności SOD i GPx w osoczu i w stymulowanej ślinie, która jednak nie ujawniła różnic aktywności tych enzymów w ślinie w porównaniu do osocza chorych z aktywną ChL-C.

W podsumowaniu mogę stwierdzić, że w aktywnej ChL-C, charakteryzującej się większą intensyfikacją stresu oksydacyjnego, system obrony antyoksydacyjnej jest osłabiony, lecz powraca do wartości normalnych w okresie remisji. Wyniki oznaczeń SOD i GPx w ślinie pacjentów z ChL-C nie są jednoznaczne, co sugeruje, że ślina nie wydaje się być odpowiednim materiałem do dalszych badań tych enzymów w ChL-C.

Wyniki tych badań były także przedstawione podczas międzynarodowej konferencji: Szczeklik K, Domagała-Rodacka R, Mach P, Cibor D, Pytko-Polończyk J, Rodacki T, Owczarek D. 2016. The activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in the blood serum and saliva in patients with Crohn's disease. 11th Congress of ECCO - Inflammatory Bowel Diseases, Amsterdam, Netherlands, 16-19.03.2016.

## **Publikacja 2.**

**Szczeklik K**, Krzyściak W, Cibor D, Domagała-Rodacka R, Pytko-Polończyk J, Mach T, Owczarek D. Markers of lipid peroxidation and antioxidant status in the serum and saliva of patients with active Crohn disease. **Polish Archives of Internal Medicine** 2018 Jun 30; 128(6): 362-370. **IF: 2.658, punktacja MNiSW: 30.**

Peroksydacja lipidów bierze udział w patogenezie wielu chorób zapalnych i nowotworów złośliwych [5,7]. Podczas tych reakcji wytwarzane są substancje, z których najbardziej znanym i najczęściej oznaczanym jest malonodialdehyd (MDA) [10]. Antyoksydacyjne mechanizmy obronne, takie jak całkowita zdolność antyoksydacyjna mierzona za pomocą FRAP i glutation (GSH), ograniczają uszkodzenie komórek indukowane przez wolne rodniki tlenowe [9, 11-12]. Utrzymywanie się stresu oksydacyjnego wpływa niekorzystnie na przebieg ChL-C i wiąże się z jej charakterystycznymi cechami i powikłaniami [5].

Wśród parametrów laboratoryjnych oznaczanych w surowicy chorych z ChL-C jest białko C-reaktywne (CRP), które jest dobrym markerem biologicznym aktywności choroby wykorzystanym w praktyce klinicznej [1]. Ponieważ brak jest innych biologicznych wskaźników aktywności ChL-C, celem mojej pracy było zbadanie przydatności diagnostycznej wybranych markerów stresu oksydacyjnego oznaczanych w surowicy i ślinie chorych z aktywną i nieaktywną ChL-C w porównaniu do grupy kontrolnej.

W pracy wykazałam, że stężenie MDA w surowicy i ślinie były znacząco podwyższone w aktywnej ChL-C w porównaniu z grupą w remisji i kontrolą. Chorzy z bardziej nasiloną aktywnością kliniczną ChL-C (wysoki wskaźnik CDAI i stężenie CRP) mieli wyższe stężenie w obu płynach ustrojowych markera peroksydacji lipidów, jakim jest MDA, w porównaniu z chorymi w remisji i w grupie kontrolnej. Natomiast aktywność antyoksydacyjna tych chorych była obniżona, bowiem FRAP i GSH ujemnie korelowały z wartościami CDAI i CRP w surowicy i

ślinie oraz z liczbą płytek krwi. Stężenia GSH w surowicy i ślinie były istotnie niższe u chorych z aktywną postacią ChL-C w porównaniu z chorymi w remisji i w grupie kontrolnej i dodatkowo korelowały z aktywnością CAT. Stężenie FRAP w ślinie było wyższe niż w surowicy u wszystkich pacjentów. Ponadto FRAP w surowicy dodatkowo korelował ze stężeniem GSH i CAT w surowicy, z BMI i stężeniem hemoglobiny. Również wykazałam istotne różnice w rozkładzie aktywności CAT pomiędzy aktywną ChL-C i nieaktywną oraz kontrolą. Analiza wyników ROC wykazała, że pole pod krzywą dla CRP wynosiło 0,85, lecz dla MDA było wyższe 0,95, co więcej charakteryzowało się wyższą czułością (0,95) i swoistością (0,87).

Niniejsza publikacja jest pierwszą, w której wykazałam różnice w zachowaniu się wskaźnika peroksydacji lipidów i poziomu antyoksydantów (FRAP i GSH) w surowicy i ślinie u chorych z aktywną ChL-C i w okresie remisji. Stwierdziłam wzrostowy trend w zachowaniu się stężenia MDA w zależności od nasilenia procesu zapalnego w ChL-C. MDA korelował dodatkowo z CDAI i CRP i ujemnie z przeciwutleniaczami takimi, jak FRAP, GSH i CAT.

W moich badaniach wykazałam, że aktywność antyoksydacyjna, mierzona za pomocą FRAP i stężenia GSH, była znacznie osłabiona w aktywnej postaci ChL-C i wzrastała u chorych w okresie remisji. Poziomy FRAP i GSH były niższe w surowicy pacjentów z aktywną chorobą. Ponadto stężenie GSH w ślinie też było istotnie niższe w aktywnej ChL-C w porównaniu do nieaktywnej i kontroli. Również aktywność CAT, enzymu biorącego udział w neutralizacji nadtlenu wodoru, była zredukowana u tych chorych. Niniejsze badania wskazują, że łączna analiza wskaźników stresu oksydacyjnego i obrony antyoksydacyjnej dostarcza więcej danych dla oceny zawansowania zachodzących zmian w ChL-C. W badaniach tych potwierdziłam też znaczenie śliny w nieinwazyjnej diagnostyce choroby układowej, jaką jest ChL-C [12, 13]. Ważne jest też spostrzeżenie, że zachowanie się stężeń MDA, FRAP i GSH w ślinie było podobne do tych w surowicy. Stąd można sądzić, że ślina może znaleźć zastosowanie w oznaczaniu markerów peroksydacji lipidów i aktywności przeciwutleniającej u chorych z ChL-C nie tylko w badaniach naukowych, ale także w praktyce klinicznej, w tym stomatologicznej [14]. Przedstawione markery stresu oksydacyjnego mogą okazać się przydatne u chorych we wczesnym okresie ChL-C, kiedy u niektórych pacjentów choroba może manifestować się tylko zmianami w obrębie jamy ustnej, bez uchwytanych typowych objawów z przewodu pokarmowego [14, 15].

W podsumowaniu tych badań stwierdziłam, że zwiększone stężenie wskaźnika peroksydacji lipidów, jakim jest MDA i obniżone poziomy antyoksydantów FRAP i GSH w surowicy i ślinie chorych z aktywną postacią ChL-C i w znacznie mniejszym stopniu u pacjentów w remisji klinicznej, potwierdzają obecność stresu oksydacyjnego w tej chorobie. Ważnym wnioskiem mojej pracy jest to, że dodatnia korelacja MDA z kliniczną aktywnością choroby i obecnym stanem zapalnym oraz porównanie krzywych ROC dla MDA i CRP sugerują, iż MDA może być cennym biomarkerem wczesnej diagnostyki zaostrzenia procesu zapalnego u chorych z ChL-C.

### Publikacja 3.

**Szczeklik K, Mach T, Cibor D, Owczarek D, Sapa J, Papież M, Pytko-Polończyk J, Krzyściak W.** Correlation of paraoxonase-1 with Crohn's disease severity. **Molecules** 2018 Oct 11; 23(10). pii: E2603. IF: 3.098, punktacja MNiSW: 30.

Paraoksonaza 1 (PON-1) należy do enzymów antyoksydacyjnych, których rola ochronna przeciwko wolnym rodnikom tlenowym polega na hydrolizie nadtlenu lipidów [16]. Brak jest danych na temat praktycznego zastosowania PON-1 w ChL-C, a opublikowane dotąd pojedyncze badania nadal wymagają potwierdzenia w większych, prospektywnych opracowaniach klinicznych. Chorzy na nieswoiste zapalenia jelit (NZJ), w tym ChL-C, mają większą skłonność do powikłań zatorowo-zakrzepowych i sercowo-naczyniowych [17]. Być może wiąże się z tym hipoteza "paradoksu lipidowego", który polega na zwiększonym ryzyku tych powikłań pomimo niskiego stężenia w surowicy cholesterolu całkowitego (TCh), lipoprotein o małej gęstości (LDL) i o dużej gęstości (HDL) [18]. Paradoks polega na tym, że u chorych z przewlekłą chorobą zapalną obserwuje się spadek LDL (tzw. "zły cholesterol") i na odwrót, wraz z redukcją stanu zapalnego wzrastają wartości lipidów w surowicy [18]. Implikacje tych zmian dla ryzyka powikłań zatorowo-zakrzepowych i sercowo-naczyniowych są niejasne, a wpływ układu autoimmunologicznego na stan zapalny i dyslipidemię w zakresie tego ryzyka w ChL-C nie jest wyjaśniony. Wykazano także, że proces zapalny wiąże się ze zmianami struktury cząsteczki HDL prowadząc do zaburzenia jej funkcji i te zmiany mogą odgrywać rolę w rozwoju zmian naczyniowych [19, 20]. Rosnąca liczba badań wskazuje, że pacjenci z niższymi poziomami TCh i LDL i mniejszą aterogennością krwi, mogą mieć zwiększone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [16, 19, 21]. Zauważono, że sam proces zapalny nie wyjaśnia istoty zmian w profilu lipidowym, co sugeruje udział dodatkowych mediatorów. Stąd zainteresowanie innymi wskaźnikami, które towarzyszą metabolizmowi lipidów, jak PON-1, jako wskaźnik antyoksydacyjny lub produkty peroksydacji lipidów, takie jak MDA [16, 22]. Przypuszcza się, że za zmiany w lipidogramie chorych na NZJ odpowiedzialne są nie tylko zmiany w stężeniu HDL, ale także relacje HDL-PON-1-MDA.

Przedstawione w publikacji moje badania miały na celu określenie związku pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną osocza mierzoną stężeniem PON-1 a ciężkością ChL-C ocenianą parametrami klinicznymi, wskaźnikami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego. Ponadto zamierzałam zweryfikować hipotezę dotyczącą prognostycznego wpływu PON-1 na przebieg i rozwój powikłań zatorowo - zakrzepowych w ChL-C.

Wykazałam, że chorzy z ChL-C mieli istotnie wyższe wskaźniki zapalne, jak leukocytoza, liczba płytek krwi, stężenie CRP i MDA oraz niższe stężenie hemoglobiny, TC, HDL, LDL i TG w porównaniu do grupy kontrolnej. Aktywność PON-1 w osoczu tych chorych była istotnie niższa w porównaniu do osób bez objawów choroby i zmieniała się w zależności od aktywności ChL-C. W grupie chorych na NZJ w okresie remisji aktywność PON-1 była statystycznie istotnie wyższa niż u pacjentów z aktywną chorobą. Ponadto stwierdziłam, że im niższa była aktywność PON-1, tym wyższe były parametry morfologiczne i biochemiczne krwi, takie jak: hemoglobina, hematokryt, TC, HDL, LDL i TG u tych chorych. PON-1 korelowała dodatnio z liczbą leukocytów i płytek krwi oraz stężeniem CRP jako wskaźnikiem stanu zapalnego, a także

z MDA jako markerem peroksydacji lipidów. Dostarczyłam także dowodów na rolę PON-1 jako potencjalnego markera aktywności ChL-C, bowiem analiza podgrup pacjentów z różnym stopniem zaawansowania choroby wykazała istotną różnicę w aktywności PON-1, jej niższe wartości w aktywnej ChL-C w porównaniu z nieaktywną chorobą.

Na podstawie analizy krzywych ROC oszacowałam użyteczność diagnostyczną PON-1 jako predyktora ChL-C, a wykorzystując pole pod krzywą ROC (AUC) wykazałam przydatność diagnostyczną PON-1 jako markera diagnostycznego ChL-C. Wynik ROC (AUC) wynosił 0,962, co oznacza, że PON-1 jest bardzo dobrym predyktorem choroby z wysoką czułością i swoistością, odpowiednio 93,62% i 91,30%. Wykazałam ponadto, że aktywność PON-1 stanowi bardzo dobry czynnik prognostyczny do różnicowania aktywności ChL-C, bowiem pole pod krzywą ROC (AUC) wynosiło 0,865, co oznacza, że PON-1 jest również dobrym predyktorem aktywnej choroby, z czułością 85,71% i swoistością 84,21%.

Tak więc, w tej pracy wykazałam po raz pierwszy związek między aktywnością PON-1 a stężeniem HDL, CRP, MDA i liczbą płytek krwi w ChL-C, co sugeruje, że PON-1 może stanowić predyktor występowania powikłań zatorowo-zakrzepowych u pacjentów z ChL-C. Chorzy z ChL-C nie mieli bowiem podwyższonego stężenia HDL pomimo, że mieli znacznie obniżoną aktywność PON-1 i wzmożoną peroksydację lipidów, spostrzeżenie to potwierdza badania w innych chorobach zapalnych ze skłonnością do powyższych powikłań i miażdżycy [16, 20-22]. Wykazanie tych zależności może leżeć u podstaw wpływu modulującego PON-1 na ryzyko zmian zakrzepowo-zatorowych u chorych z ChL-C.

Niniejsze badanie wydaje się być pierwszym, które ujawnia ochronną rolę PON-1 w stosunku do HDL u chorych z równoczesną redukcją stresu oksydacyjnego, na co wskazuje bardzo silna ujemna korelacja PON-1 i MDA ( $r=-0,924$ ,  $p<0,001$ ) i umiarkowana dodatnia korelacja PON-1 i HDL ( $r=0,536$ ,  $p<0,001$ ) oraz między wskaźnikiem aktywności choroby ChL-C (CDAI) a HDL ( $r=-0,533$ ,  $p<0,001$ ).

W podsumowaniu uważam, że moje badania, w których wykazałam niską aktywność PON-1 u chorych z aktywnym procesem zapalnym charakteryzującym się większą liczbą płytek krwi i wyższym stężeniem CRP i MDA we krwi oraz ujemne korelacje PON-1 z liczbą płytek krwi, CRP, MDA i lipidami, w tym HDL i LDL, mogą wskazywać na fakt, iż PON-1 w połączeniu z pozostałymi parametrami może stanowić ważny wskaźnik w ocenie zagrożenia powikłaniami zatorowo-zakrzepowymi u tych pacjentów. Dalsze badania kliniczne mogą wyjaśnić, czy włączenie do diagnostyki oznaczeń PON-1, CRP, MDA, płytek krwi i lipidów, w tym HDL i LDL, jako czynników ryzyka tych powikłań, może tak zmodyfikować dotychczasowe schematy leczenia, aby zapobiec w przyszłości pojawieniu się problemów zatorowo-zakrzepowych u chorych z ChL-C.

#### **Publikacja 4.**

**Szczeklik K,** Krzyściak W. Od uszkodzeń miejscowych do narządowych - konsekwencje zaburzeń równowagi pomiędzy produkcją reaktywnych form tlenu a sprawnością układów antyoksydacyjnych w chorobie Leśniowskiego-Crohna. **Przegląd Lekarski 2019; 76 (1): 638-644.**

**Punktacja MNiSW: 10.**

W pracy poglądowej przedstawiłam charakterystykę kliniczną ChL-C oraz omówiłam stres oksydacyjny, jako jeden z czynników patogenetycznych tej choroby. Stres oksydacyjny jest skutkiem zaburzonej równowagi między reaktywnymi formami tlenu, o których wiadomo, że powodują uszkodzenia komórek, a aktywnością układów antyoksydacyjnych i wraz z dysfunkcją układu immunologicznego są ważnymi czynnikami patogenetycznymi uszkodzenia przewodu pokarmowego w ChL-C. Stres oksydacyjny został zaproponowany jako mechanizm leżący u podstaw patofizjologii ChL-C, związanej z niszczeniem struktur komórkowych, w tym materiału genetycznego. Efektem tych zmian jest nie tylko starzenie się komórki, lecz również poważne uszkodzenia, prowadzące do śmierci komórek, zmian narządowych i w konsekwencji pogorszenia stanu chorych [5-9]. System obronny przed rozwojem stresu oksydacyjnego jest złożony i angażuje wiele czynników, do których należą: enzymy (katalaza, dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa), makrocząsteczki (albumina, ceruloplazmina) i małe cząsteczki (witamina C, E,  $\beta$  karoten, zredukowany glutation i kwas moczowy), z których niektóre znalazły zastosowanie jako wspomagające w ChL-C. Ocena produktów uszkodzeń wywołanych przez reaktywne formy tlenu w płynach ustrojowych, w tym w coraz częściej wykorzystywanej ślinie, pozwala na skuteczne monitorowanie choroby i jej postępu, podejmowanie w odpowiednim czasie środków zaradczych oraz ocenę prowadzonej terapii. Zwróciłam uwagę na możliwości badań generacji wolnych rodników tlenowych poprzez pomiar zdolności systemów antyoksydacyjnych, jako ocenę obrony komórek przed utlenionymi cząsteczkami. Zwróciłam też uwagę na potrzebę większej świadomości dotyczącej poszukiwań nowych, potencjalnych biomarkerów w badaniach nad monitorowaniem stanu klinicznego chorych z ChL-C, wykorzystujących także relacje oksydanty-antyoksydanty i ich efekty. Ponadto w pracy przedstawiłam przydatność zastosowania w badaniach nad stresem oksydacyjnym u chorych z ChL-C śliny, jako płynu ustrojowego stosowanego z powodzeniem w diagnostyce nie tylko lokalnych zmian w jamie ustnej, ale także w ocenie markerów wielu chorób ogólnoustrojowych [13]. Należy też dodać, że w publikacjach nr 1 i nr 2 badałam wskaźniki stresu oksydacyjnego nie tylko w osoczu lub surowicy, lecz także w niestymulowanej lub stymulowanej ślinie.

Pomimo stosunkowo dobrze poznanych patomechanizmów stresu oksydacyjnego i reakcji zapalnych w różnych jednostkach chorobowych, w tym w ChL-C, nadal nie zostały wprowadzone do praktycznego użycia nowsze biomarkery wczesnego rozpoznawania procesu zapalnego, monitorowania przebiegu choroby i jej leczenia. Niektóre z nich, jak MDA, który jest uznanym wskaźnikiem nasilenia peroksydacji lipidów, FRAP będący wskaźnikiem całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza, czy PON-1 – enzym antyoksydacyjny związany z aktywnością osoczewego lipidu HDL, pomimo dobrze ugruntowanej pozycji w badaniach naukowych, oczekują potwierdzenia w dużych badaniach klinicznych. Należy jednak podkreślić, że wraz z postępowaniem w poznawaniu etiopatogenezy ChL-C, można oczekiwać dalszych badań nad innymi biomarkerami, w tym testami opartymi na technikach biologii molekularnej, które być może okażą się przydatne w praktyce klinicznej u chorych z NZJ, w tym w ChL-C.

## Podsumowanie

1. W aktywnej ChL-C charakteryzującej się nasilonym stresem oksydacyjnym, system obrony antyoksydacyjnej, mierzony przy pomocy enzymów SOD i GPx, jest osłabiony, jednak powraca do wartości normalnych w okresie remisji, gdy dochodzi do wyciszenia procesu zapalnego i objawów klinicznych. Poza oznaczeniami SOD i GPx w osoczu, badania ich w ślinie chorych z ChL-C nie były jednoznaczne, stąd uważam, że ślina, jakkolwiek stanowi łatwy do uzyskania płyn ustrojowy, nie jest przydatna w badaniach tych enzymów.
2. Zwiększone stężenie MDA, jako wskaźnika peroksydacji lipidów i obniżone poziomy FRAP i GSH, jako wskaźników aktywności antyoksydacyjnej w surowicy i ślinie chorych z zaostrzeniem ChL-C, potwierdzają obecność stresu oksydacyjnego w aktywnej chorobie. Wykazana zależność MDA z kliniczną aktywnością ChL-C i obecnym stanem zapalnym oraz porównanie krzywych ROC dla MDA i CRP sugerują, że MDA może być dodatkowym, cennym wskaźnikiem biochemicznym w wczesnym rozpoznawaniu zaostrzenia ChL-C.
3. Niska aktywność PON-1 i jednocześnie podwyższona liczba płytek krwi, stężenie CRP i MDA oraz ujemne korelacje PON-1 z liczbą płytek krwi, CRP, MDA i lipidami, w tym HDL i LDL, mogą wskazywać na możliwość wystąpienia powikłań zatorowo - zakrzepowych i miażdżycowych u tych pacjentów. Włączenie przedstawionych parametrów biochemicznych, takich jak PON-1, CRP, MDA, płytek krwi i lipidów, w tym HDL i LDL, jako czynników ryzyka tych powikłań, w postępowaniu diagnostycznym może zmodyfikować podejście terapeutyczne i być może zapobiec tym zagrożeniom u chorych z ChL-C.
4. Pomimo stosunkowo dobrze poznanych patomechanizmów stresu oksydacyjnego i reakcji zapalnej w ChL-C, nadal nie zostały wprowadzone do praktycznego użycia nowsze biomarkery wczesnego rozpoznawania aktywności tej choroby, monitorowania jej przebiegu i leczenia. Niektóre z nich, jak MDA, który jest uznanym wskaźnikiem nasilenia peroksydacji lipidów, FRAP, który jest wskaźnikiem całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza, czy PON-1 – enzym antyoksydacyjny związany z aktywnością osoczowego lipidu HDL, pomimo dobrze ugruntowanej pozycji w badaniach naukowych, oczekują potwierdzenia w dużych badaniach klinicznych. Należy jednak podkreślić, że wraz z postępem w poznawaniu etiopatogenezy ChL-C, można oczekiwać dalszych badań nad innymi biomarkerami, w tym testami opartymi na technikach biologii molekularnej, które być może okażą się przydatne w praktyce klinicznej u chorych z NZJ, w tym w ChL-C.

## Piśmiennictwo

1. Gomollon T, Dignass A, Annese V, et al. 3<sup>rd</sup> European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: Part 1: Diagnosis and medical management. J Crohn's Colitis 2017; 3-25.

2. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54.
3. Karolewska-Bochenek K, Lazowska-Przeorek I, Albrecht P, et al. Epidemiology of inflammatory bowel disease among children in Poland. A prospective, population-based, 2-year study, 2002-2004. *Digestion* 2009; 79: 121-129.
4. Szczeklik K, Pytko-Polończyk J, Cibor D, et al. Oral mucosa lesions in patients with active Crohn's disease - a prospective study. *Przeg Lek.* 2017; 74(2): 57-61.
5. Piechota-Polanczyk A, Fichna J: Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2014; 387: 605-620.
6. Alzoghaibi MA: Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2013; 19: 6540–6547.
7. Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M: Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause. *Dig Dis Sci.* 2007; 52: 2015-21.
8. Koutroubakis IE, Malliaraki N, Dimoulios PD, et al. Decreased total and corrected antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2004; 49: 1433–1437.
9. Pinto MA, Lopes MS, Bastos ST, et al. Does active Crohn's disease have decreased intestinal antioxidant capacity? *J Crohn's Colitis.* 2013; 7: 358–366.
10. Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, et al. Lipid peroxidation markers in Crohn's disease: The associations and diagnostic value. *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50: 1359–1366.
11. Shetti N, Patil R: Antioxidants: Its beneficial role against health damaging free radical. *WJSTR.* 2011; 1(11): 46-51.
12. Rezaie A, Ghorbani F, Eshghtork A, et al. Alterations in salivary antioxidants, nitric oxide, and transforming growth factor-beta 1 in relation to disease activity in Crohn's disease patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1091: 110-122.
13. Greabu M, Battino M, Mohora M, et al. Saliva—a diagnostic window to the body, both in health and in disease. *J Med Life.* 2009; 2(2): 124–132.
14. Szczeklik K, Darczuk D, Owczarek D. Inflammatory changes of oral cavity preceding appearance of clinical symptoms of Crohn's disease. *PrzegLek.* 2010; 67(12): 1346-1349.
15. Coenen C, Börsch G, Müller KM, Farby H. Oral inflammatory changes as an initial manifestation of Crohn's disease antedating abdominal diagnosis. Report of case. *Dis Colon Rectum.* 1988; 31(7): 548-552.
17. Soran H, Schofield JD, Liu Y, Durrington PN. How HDL protects LDL against atherogenic modification: paraoxonase 1 and other dramatis personae. *Curr Opin Lipidol.* 2015; 26(4): 247-256.
18. Cibor D, Owczarek D, Butenas S, et al. Levels and activities of von Willebrand factor and metalloproteinase with thrombospondin type-1 motif, number 13 in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2017, 232(26): 4796-4805.



19. Miljkovic M, Stefanovic A, Simic-Ogrizovic S, et al. Association of Dyslipidemia, Oxidative Stress, and Inflammation with Redox Status in VLDL, LDL, and HDL Lipoproteins in Patients with Renal Disease. *Angiology*. 2018; 3319718780041.
20. Feingold KR, Grufeld C. Effect of inflammation on HDL structure and function. *Curr Opin Lipidol*. 2016; 27(5): 521-530.
21. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Investig*. 1995; 96: 2758–2767.
22. Vakili L, Navab KD, Shabihkhani M, et al. Systemic inflammation, intestine, and paraoxonase-1. *Adv Exp Med Biol*. 2014; 824: 83-828.
23. Navab M, Anantharamaiah GM, Fogelman AM. The role of high-density lipoprotein in inflammation. *Trends Cardiovasc Med*. 2005;15(4):158-161.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

### Dane bibliometryczne

Poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego, mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje łącznie 38 prac pełnotekstowych, w tym 22 prac oryginalnych, 7 prac poglądowych, 8 opisów przypadków (w tym 1 z IF 2,121) oraz 1 publikacja pełnotekstowa w suplemencie czasopisma (IF 2,974).

W 9 pracach oryginalnych (w tym w 2 z IF) i w 3 pracach poglądowych jestem pierwszym autorem. Opublikowałam 9 prac w czasopismach posiadających Impact Factor (średni IF 2,209). Ponadto jestem autorem/współautorem 29 doniesień zjazdowych, w tym 17 krajowych i 12 międzynarodowych.

Prace, których jestem współautorem były opublikowane w impaktowanych czasopismach naukowych, takich jak: *Journal of Dental Sciences* (2018), *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* (2012, 2017,2019), *Clinical Rheumatology* (2013), *European Journal of Immunology* (2017), *International Journal of Maxillofacial Surgery* (2017), *Journal of Physiology and Pharmacology* (2006). Pozostałe prace opublikowałam w: *Journal of Stomatology*, *Przeglądzie Lekarskim*, *Przeglądzie Gastroenterologicznym*, *Folia Medica Cracoviensia*, *Medicina Internacia Revuo*, *Magazynie Stomatologicznym*, *Medical Tribune Stomatologia* i innych.

Sumaryczny Impact Factor wszystkich prac naukowych (poza osiągnięciem naukowym) – wynosi 20,239, a łączna punktacja MNiSW wynosi 383, a sumaryczny IF wszystkich prac oryginalnych wynosi 18,118, a łączna punktacja tych prac MNiSW wynosi 200.

Sumaryczny Impact Factor wszystkich prac naukowych (wraz z osiągnięciem naukowym) – wynosi 28,878, a MNiSW: 478.

Dodatkowo jedna publikacja oryginalna w suplemencie IF 2,974.

Liczba cytowań wg Web of Science wynosi 74 (bez autocytowań: 69).

Współczynnik Hirscha (wg Web of Science z dnia 27.03.2019) wynosi: 4.

### **I. Badania nadwrażliwości zębiny**

Pierwsze moje badania dotyczyły nadwrażliwości zębiny, czyli nadmiernego bólu wywołanego różnymi bodźcami w obrębie odsłoniętej zębiny. W badaniach oceniałam preparat Green Or (Italmed), którego działanie polega na podwójnej reakcji wymiany zachodzącej między solami potasu, wapnia i strontu na powierzchni zębiny, powodując powstanie związku krystalicznego zamykającego kanaliki zębinowe. W projekcie tym oceniałam stopień nadwrażliwości określając intensywność bólową wg skali werbalnej Hochmana. Wyniki badań wykazały ustąpienie dolegliwości bólowych po zastosowaniu badanego preparatu w przypadku nieznacznej nadwrażliwości zębiny po jego jednorazowym zastosowaniu, natomiast średni ból wymagał ponownej aplikacji materiału, a ból silny pozostawał niezmienny. Wyniki badań były prezentowane podczas konferencji.

#### Prezentacja konferencyjna:

1. Chomyszyn-Gajewska M, **Szczeklik K.** „Green Or - wstępna ocena nowego preparatu do znoszenia nadwrażliwości zębiny”. Konferencja Naukowo-szkoleniowa „Biomateriały a środowisko jamy ustnej” - Saldent 2003. Poznań, 20-21.03.2003.

### **II. Badania *in vitro* nad oceną szczelności brzeżnej materiałów**

W badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* oceniałam szczelność brzeżną materiałów stomatologicznych z zastosowaniem testów infiltracji barwnikowej wraz z oceną wskaźnika mikroprzecieku M. W badaniach tych określałam szczelność materiałów stosowanych w odmiennych sytuacjach klinicznych. W pierwszym projekcie badałam wsteczne wypełnienia kanałów korzeniowych wybranymi materiałami. Mój udział w pracy polegał na wykonywaniu procedur stomatologicznych, jak resekcja wierzchołka korzenia, wsteczna preparacja kanału i wypełnienie wsteczne, przygotowaniu usuniętych zębów do badań *in vitro* oraz poddaniu próbek testom infiltracji barwnikowej z następową oceną mikroskopową występowania mikroprzecieku w postaci penetracji barwnika. Badania te wykazały, że najlepszą szczelność brzeżną wstecznych wypełnień kanałów stwierdza się w przypadku zastosowania MTA (mineralny aglomerat trójtlenków metali), gorszą cementu glasionomerowego oraz najgorszą amalgamatu. W drugim projekcie dotyczącym wybranych systemów łączących VI generacji, oceniałam szczelność brzeżną wypełnień kompozytowych ubytków z zastosowaniem różnych samotrawiących systemów łączących VI generacji. Mój udział polegał również na przygotowaniu próbek i ich opracowaniu, preparacją ubytków klasy V wg Blacka w zębach bocznych, zastosowaniu jednego z sześciu systemów łączących oraz wypełnieniu materiałem kompozytowym. Próbki poddawałam termocyklom, a następnie wykonywałam testy biernej infiltracji barwnika z następową oceną wyników. W tym badaniu stwierdziłam występowanie mikroprzecieku przy zastosowaniu wszystkich badanych systemów łączących, czyli żaden z nich nie wyeliminował powikłania skurczu polimeryzacyjny materiałów kompozytowych.

Efektem tych badań była publikacja oryginalna oraz dwie prezentacje podczas konferencji.

Publikacja:

1. Zarzecka J, **Szczeklik K**, Gończowski K, Kustra P, Jędrychowska P. Analiza porównawcza wybranych systemów łączących VI generacji - ocena szczelności brzeżnej (badania in vitro). **Poradnik Stomatologiczny**. 2004; 4(12): 36-41. **Punktacja MNiSW: 2.**

Prezentacje konferencyjne:

1. Zarzecka J, Gończowski K, **Szczeklik K**, Kustra P. Ocena szczelności brzeżnej materiałów do wstecznego wypełniania kanałów korzeniowych. 10 Kongres Stomatologów Polskich, Wrocław, 22-24.04.2004,
2. **Szczeklik K**, Zarzecka J, Gończowski K, Kustra P, Jędrychowska P; 2004; Analiza porównawcza wybranych systemów łączących VI generacji (ocena szczelności brzeżnej). XIII Naukowo-Szkoleniowe Sympozjum Lekarzy Stomatologów, Zakopane 22-25.09.2004.

### III. **Badania nad występowaniem i rodzajem cieśni między kanałami tego samego korzenia**

Kolejnym obszarem moich zainteresowań badawczych były badania nad występowaniem i rodzajach cieśni, czyli wąskich poprzecznych połączeń kanałów jednego z korzeni zęba. Odgrywają one istotną rolę w patologii tkanek okołowierzchołkowych zęba. Najczęściej struktury te są obserwowane w odległości 3-4 mm od wierzchołka anatomicznego, czyli w odległości typowej dla zabiegu resekcji wierzchołka korzenia zęba. Niepowodzenia zabiegu leczenia endodontycznego w przypadku korzeni wielokanałowych mogą być spowodowane nierozpoznanie cieśni. Celem moich badań była ocena występowania cieśni w korzeniu policzkowym bliższym pierwszych zębów trzonowych szczęki. Czterdzieści korzeni policzkowych bliższych przecinałam w odległości 1mm, 4 mm oraz 6 mm od wierzchołka anatomicznego, a powierzchnie zęba po przecięciu barwiłam błękitem metylenowym dla lepszego uwidocznienia tkanek miękkich. Obecność lub brak i typ cieśni określałam w powiększeniu 16-krotnym przy pomocy mikroskopu endodontycznego. Rodzaj cieśni określałam wg klasyfikacji Kim, Pecora i Rubinstein. Występowanie cieśni częściej obserwowałam w odległości 4 i 6 mm niż 1 mm od wierzchołka korzenia, stąd podczas zabiegu resekcji wierzchołka korzenia wskazana jest dokładna ocena resekowanej powierzchni. Najczęściej występowała cieśń typu 1 wg powyższej klasyfikacji, w której między kanałami występuje słabo dostrzegalna linia połączenia. Wyniki badań oraz istotę tej struktury anatomicznej zęba przedstawiłam w dwóch pracach oraz jednym doniesieniu konferencyjnym.

Publikacje:

1. Zarzecka J, **Szczeklik K**, Gończowski K. Cieśni. **Poradnik Stomatologiczny**. 2004; 4(3): 26-29. **Punktacja MNiSW: 2.**
2. Zarzecka J, **Szczeklik K**, Gończowski K, Kustra P. Częstość występowania i rodzaje cieśni w korzeniu policzkowym bliższym pierwszych zębów trzonowych szczęk. **Poradnik Stomatologiczny**. 2011; 11(10): 414-418. **Punktacja MNiSW: 3.**

#### Prezentacja konferencyjna:

1. Zarzecka J, Gończowski K, **Szczeklik K**, Kustra P; 2003; Częstość występowania i rodzaje cieśni w korzeniu policzkowym bliższym pierwszych zębów trzonowych szczęki. XII Wielospecjalistyczne Sympozjum Lekarzy Stomatologów. Zakopane, 24-27.09. 2003.

#### **IV. Ocena gojenia zmian okołowierzchołkowych po zabiegu resekcji wierzchołka korzenia zęba z wstecznym wypełnieniem**

W związku z faktem, iż w poprzednich badaniach *in vitro* wykazaliśmy, że najlepszą szczelnością brzeżną wstecznych wypełnień kanałów cechował się materiał MTA (mineralny aglomerat trójtlenków metali) postanowiłam ocenić gojenie zmian okołowierzchołkowych *in vivo* po zabiegu resekcji wierzchołka korzenia zęba z wstecznym wypełnieniem tym materiałem. Poddano zabiegom 20 zębów, w przypadkach, w których leczenie zachowawcze nie było zakończone powodzeniem i wymagane było leczenie metodą resekcji wierzchołka korzenia zęba w wstecznym wypełnieniu MTA. Ocena rtg następowała po 3, 6 i 12 miesiącach. Ocenę rtg oparto na trzystopniowym kryterium gojenia przyzębia okołowierzchołkowego wg Schwartz-Arad i wsp. Całkowite wygojenie zmian po zabiegu uzyskano w 80% przypadków. Wyniki badań przedstawiono podczas konferencji.

#### Prezentacja konferencyjna:

1. **Szczeklik K**, Pawłowska K; 2007; Ocena radiologiczna gojenia zmian okołowierzchołkowych po zabiegu resekcji wierzchołka korzenia zęba z wstecznym wypełnieniem preparatem ProRoot MTA. 16 Naukowo-Szkoleniowe Sympozjum Lekarzy Stomatologów, Kraków, 19-21.09.2007.

#### **V. Badania nad wpływem niesteroidowych leków przeciwzapalnych i zakażenia *Helicobacter pylori* na występowanie zmian błony śluzowej żołądka u ludzi i zwierząt doświadczalnych**

Niezależnie od pracy zawodowej w Instytucie Stomatologii UJ CM, wykonywania zadań dydaktycznych i praktycznych przy chorych, dalsze moje zainteresowania naukowe w latach 2005-2006 realizowałam w Katedrze Fizjologii WL UJ CM (kierownik: prof. T. Brzozowski), wiodącym ośrodku badawczym fizjologii przewodu pokarmowego w Polsce. Zamierzałam bowiem poznać szczegółowo metodykę badań naukowych z zakresu nauk podstawowych, uczestniczyć w planowaniu i przeprowadzaniu eksperymentów i analizowaniu uzyskanych wyników. Celem badań doświadczalnych prowadzonych na zwierzętach, a także badań na wycinkach błony śluzowej żołądka ludzi było wyjaśnienie niektórych mechanizmów patogenetycznych zmian zapalnych błony śluzowej górnego odcinka przewodu pokarmowego wywołanych różnymi czynnikami i wpływu na nie testowanych substancji. Mój udział w tych badaniach polegał na asystowaniu w prowadzonych eksperymentach, pobieraniu tkanek do badań, analizowaniu piśmiennictwa i współudziale w przygotowywaniu manuskryptu.

Badania wykazały, że bakteria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) upośledza adaptację błony śluzowej żołądka do aspiryny u ludzi, co sugeruje, że bakteria ta nasila toksyczność żołądkową tego leku. Po eradykacji *H. pylori* uszkodzenie błony śluzowej żołądka zostało znacznie

zmniejszone w ocenie endoskopowej i histologicznej i towarzyszyła istotnie zwiększona ekspresja czynnika wzrostu TGF $\alpha$  w błonie śluzowej. Natomiast wydzielanie prostaglandyny E2 (PGE2) w błonie śluzowej żołądka, posiadającej dobrze poznane właściwości gastroprotekcyjne, było istotnie większe u osób zakażonych *H. pylori* niż po eradykacji bakterii, natomiast leczenie aspiryną redukowało wydzielanie PGE2 niezależnie od statusu zakażenia. Stwierdziliśmy, że adaptacja błony śluzowej żołądka do aspiryny była upośledzona u osób zakażonych *H. pylori*, a eradykacja tej bakterii przywróciła ten proces. Uważamy, że na podstawie wyników tych badań i analizy piśmiennictwa z tego zakresu, konieczne są dalsze badania eksperymentalne i kliniczne celem wyjaśnienia złożonych zależności patogenetycznych uszkodzenia błony śluzowej i gastroprotekcji.

Efektom tych badań prowadzonych we współpracy Instytutu Stomatologii UJ CM z zespołem ww. Katedry była moja publikacja oryginalna w suplemencie czasopisma i dwie prezentacje ustne na kongresach międzynarodowych.

Publikacja:

1. Brzozowski T, Konturek PC, Śliwowski Z, Kwiecień S, Drozdowicz D, Pawlik M, **Mach-Szczeklik K**, Konturek SJ, Pawlik WW. Interaction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) with *Helicobacter pylori* in the stomach of humans and experimental animals. **Journal of Physiology and Pharmacology** 2006; 57(suppl. 3): 67-79. IF: 2.974. **punktacja MNISW: 20.**

Prezentacje konferencyjne:

1. Brzozowski T, Konturek PC, Bielanski W, Drozdowicz D, Pajdo R, **Mach-Szczeklik K**, Janik M, Konturek SJ, Pawlik WW. Gastrin enhances the gastric mucosal impairment associated with *Helicobacter pylori* infection in mongolian gerbils. *Digestion*. 2006; 73(suppl. 2): 15, I-O-9-46. 12th International Conference on Ulcer Research (ICUR) and GI Satellite of IUPHAR 2006, Osaka, Japan, July 7-9, 2006.
2. Śliwowski Z, Brzozowski T, Drozdowicz D, Pajdo R, Pawlik M, **Mach-Szczeklik K**, Konturek SJ, Pawlik WW. Adaptacja błony śluzowej żołądka do klasycznych niesterydowych leków przeciwzapalnych i ich pochodnych uwalniających tlenek azotu. Znaczenie lipoksyn i peroksydacji lipidów. *Gastroenterol. Pol.* 2006; 13(supl.1): 88, abstr. 102. XII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego, Łódź, 9-11 czerwca 2006.

Kolejne badania eksperymentalne dotyczyły różnych aspektów wpływu peptydów regulujących apetyt - greliny i leptyny na gojenie wrzodów doświadczalnych u szczurów. Wykazałam, że przyspieszają one gojenie tych wrzodów w mechanizmach protekcyjnych związanych z aktywacją sensorycznych nerwów aferentnych, udziałem histaminy, uwalnianiem tlenku azotu i gastryny. Inne badania dotyczyły prób wyjaśnienia patomechanizmów działania ochronnego na błonę śluzową żołądka pentoksyfiliny i tlenku azotu. Wykazałam ich działanie gastroprotekcyjne przed uszkodzeniem stresowym żołądka szczurów. Wyniki tych badań, w których uczestniczyłam, oraz innych dotyczących gastroprotekcji, były prezentowane w 2006 roku podczas kilku kongresów:

#### Prezentacje konferencyjne:

3. Brzozowski T, Konturek PC, Kwiecień S, Pajdo R, Drozdowicz D, **Mach-Szczeklik K**, Konturek SJ, Pawlik WW, Hahn EG. Appetite peptides, ghrelin and leptin accelerate gastric ulcer healing via activation of sensory afferent nerves, nitric oxide (NO) pathway and gastrin release. Gut. 2006; 55(suppl. 5): A37, abstr. OP-G-162. 14th United European Gastroenterology Week, Berlin, October 21-25, 2006.
4. Kwiecień S, Pawlik MW, **Mach-Szczeklik K**, Śliwowski Z, Mitis-Musioł M, Kwiecień N, Brzozowski T, Pawlik WW, Konturek SJ. Gastroprotection by pentoxifylline in damage of upper part of GI tract with contribution of oxygen metabolism. J. Physiol. Pharmacol. 2006; 57(suppl. 2): 180. XXII Congress of the Polish Physiological Society "Physiology without limits", Warsaw, Poland, 14 - 16 September, 2006.
5. Kwiecień S, Pawlik MW, Śliwowski Z, Mitis-Musioł M, Kwiecień N, **Szczeklik K**, Brzozowski T, Pawlik WW, Konturek SJ. Gastroprotekcyjne działanie pentoksyfiliny i tlenu azotu w stresowym modelu doświadczalnym. Udział reaktywnych form tlenu. Gastroenterol. Pol. 2006; 13(supl.1): 87, abstr. 101. XII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego, Łódź, 9-11 czerwca 2006.
6. Śliwowski Z, Drozdowicz D, Kwiecień S, Majka J, Pawlik M, **Mach- Szczeklik K**, Pajdo R, Bielański W, Brzozowski T, Konturek SJ, Pawlik WW; 2006; Involvement of prostaglandin/cyclooxygenase pathway, vagal and afferent sensory nerves in attenuation of ischemia-reperfusion injury by appetite hormone orexin-A. 15th International Symposium of Polish Network of Molecular and Cellular Biology UNESCO/PAS, Cracow, Poland, 1-2.06.2006.
7. Pajdo R, Brzozowski T, Kwiecień S, Pawlik M, Drozdowicz D, **Szczeklik K**, Bielański W, Konturek SJ, Pawlik WW; 2006; Implication of histamine and histidine decarboxylase (HDC) in gastroprotective activity of ghrelin. 15th International Symposium of Polish Network of Molecular and Cellular Biology UNESCO/PAS, Cracow, Poland, 1-2.06.2006.

#### **VI. Badania nad występowaniem zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z chorobą Leśniowskiego-Crohna**

Kolejne moje zainteresowania badawcze realizowałam we współpracy z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii Katedry Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych UJ CM. Wynikiem tego interdyscyplinarnego podejścia do chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit, a zwłaszcza ChL-C, były początkowo opisy ciekawych i rzadkich przypadków występowania zmian w obrębie jamy ustnej u dorosłego chorego z ChL-C. Prace te realizowałam w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych (rok 2011) i kontynuowałam w latach późniejszych.

Podjęcie badań dotyczących występowania zmian chorobowych w jamie ustnej u pacjentów z ChL-C wynikało z obserwacji podczas konsultacji stomatologicznych tych chorych i wykrywania stosunkowo rzadko rozpoznawanych patologii, a także przeglądu piśmiennictwa z tego zakresu. W przebiegu ChL-C mogą bowiem występować manifestacje w obrębie jamy ustnej, które po raz pierwszy opisano z końcem lat 1960-tych. Początkowo sądzono, że

owrzodzenia lub zmiany o typie aft występujące na błonie śluzowej jamy ustnej obserwowane są rzadko, u około 4–9% chorych z ChL-C zlokalizowaną w jelicie cienkim lub grubym. Późniejsze badania wykazały, że zmiany te rozpoznaje się z różną częstością, u ok. 0,5–20% dorosłych i częściej u dzieci (42–80%), zwłaszcza z powikłaniami okołoodbytniczymi. Mimo, iż są one łatwo dostępne podczas badania przedmiotowego chorego, wielu autorów uważa, że w praktyce są często nierozpoznawane. Zmiany te charakteryzują się szerokim spektrum manifestacji, a najczęściej wiąże się ich rozwój z zakażeniem, niedoborami żywieniowymi, niekorzystnym wpływem leków. Znacznie rzadsze są inne, uważane za swoiste dla ChL-C, które zawierają ziarniniaki nieserowaciejące w bioptatach błony śluzowej jamy ustnej. Do tego typu zmian zalicza się głębokie, linijne owrzodzenia, obraz brukowanej błony śluzowej (*cobblestoning*), obrzęk i zapalenie błony śluzowej jamy ustnej. Ujawnienie ich obecności jest ważne w postępowaniu diagnostycznym w ChL-C ze względu na łatwy dostęp podczas badania fizykalnego i charakterystyczne cechy kliniczne. Stąd zainteresowałam się ich prezentacją w literaturze, a z uwagi na słabe rozeznanie problemu wśród lekarzy stomatologów i nieliczne doniesienia w polskim piśmiennictwie, podjęłam badania z tego zakresu.

W publikacjach dotyczących opisu przypadków zwracałam uwagę na przydatność badania stomatologicznego u chorego z aktywną ChL-C. Badanie to umożliwia bowiem rozpoznanie zmian zapalnych, w tym owrzodzeń błony śluzowej jamy ustnej i weryfikację diagnozy zapalenia nieswoistego za pomocą oceny histopatologicznej. Leczenie miejscowe tych zmian zwykle przewleka się, jest słabo skuteczne, natomiast wprowadzenie typowego leczenia ogólnego zaostrzenia ChL-C powoduje wygojenie tego typu patologii w obrębie jamy ustnej chorych. W ostatniej publikacji przedstawiłam rodzaj i częstość tych zmian w jamie ustnej u chorych z ChL-C i wykazałam związek ich obecności z aktywnością ChL-C. W zaostrzeniu choroby korelowały one z nasileniem procesu zapalnego, stopniem niedokrwistości, zwiększoną liczbą płytek, wyższym stężeniem CRP i mniejszym BMI.

Badania dotyczące występowania zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z ChL-C prowadziłam w latach 2007-2014. Efektem były 4 prace kazuistyczne i dwa doniesienia konferencyjne.

#### Opisy przypadków:

1. **Szczeklik K**, Zarzecka J, Zaleska M, Sendur A, Czajka M. Owrzodzenie błony śluzowej jamy ustnej powstałe w przebiegu zaostrzenia choroby Leśniowskiego - Crohna - opis przypadku. **Implantoprotetyka**. 2007; 8(4): 34-37. **Punktacja MNiSW: 4.**
2. Mach T, **Szczeklik K**, Garlicka K, Owczarek D. Owrzodzenie w obrębie jamy ustnej u chorego z aktywną chorobą Leśniowskiego-Crohna. **Przegląd Gastroenterologiczny**. 2007; 2(4): 210-213. **Punktacja MNiSW: 4.**
3. Czajka M, Zapała A, **Szczeklik K**, Stachura J, Zapała J. Trudności diagnostyczne zmian chorobowych w jamie ustnej w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna - opis przypadku. **Implantoprotetyka**. 2007; 8(3): 37-39. **Punktacja MNiSW: 4.**
4. **Szczeklik K**, Darczuk D, Owczarek D. Zmiany zapalne w jamie ustnej wyprzedzające występowanie objawów choroby Leśniowskiego-Crohna. Opis przypadku. **Przegląd Lekarski**. 2010; 67(12): 1346-1349. **Punktacja MNiSW: 6.**

#### Prezentacje konferencyjne:

1. Mach T, **Szczeklik K**, Owczarek D. Zmiany w obrębie jamy ustnej u chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna - badania prospektywne. 2008; XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Gdańsk, 13-15 czerwca 2008.
2. **Szczeklik K**, Darczuk D, Kęsek B, Cabała A, Chomyszyn-Gajewska M, Loster BW; 2010; Zmiany w jamie ustnej w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna. Konferencja Naukowa Sekcji Periodontologii Polskiego Towarzystwa Stomatologicznego, Białystok 17-19.06.2010.

#### **VII. Badania wybranych cytokin prozapalnych w ślinie chorych z chorobą Leśniowskiego-Crohna**

Dalsze moje zainteresowania badawcze realizowałam we współpracy z Kliniką Gastroenterologii i Hepatologii Katedry Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych UJ CM. Wynikiem tych badań były publikacje dotyczące zachowania się wybranych wskaźników procesu zapalnego mierzonych w ślinie u chorych z różnym fenotypem ChL-C. Badania z tego zakresu realizowałam w latach 2007-2011. Ich efektem była moja praca doktorska (obrona w 2011 r.), dwie publikacje oryginalne w kolejnym roku (2012 r.), 2 prezentacje na konferencjach (2010, 2011) i prezentacja podczas XV Kongresu Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego w Krakowie w 2012 r.

W mojej pracy doktorskiej badałam częstość i rodzaje zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z ChL-C, wydzielanie śliny, a także zachowanie się w niej takich cytokin, jak interleukina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-10 i TNF- $\alpha$ . Wykazałam, że u 5% chorych z ChL-C występują zmiany w jamie ustnej w postaci rozlanego obrzęku warg i policzka, u 3% tzw. „brukowanie” błony śluzowej, u 3% zapalenie języka. Wykazałam też częstą obecność choroby próchnicowej zębów, a także zmian okołowierzchołkowych u tych chorych, stanowiących potencjalne źródło zakażenia ogólnoustrojowego i wymagających wyeliminowania w przypadku planowanego leczenia immunosupresyjnego lub biologicznego. Wydzielanie śliny było podobne w grupie chorych z ChL-C, jak w grupie kontrolnej, a stężenie w ślinie IL-6 i TNF- $\alpha$  było istotnie wyższe u chorych w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenie IL-6 było wyższe w okresie zaostrzenia w porównaniu do okresu remisji ChL-C, natomiast IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami. IL-10 w ślinie chorych zarówno z zaostrzeniem objawów, jak i w okresie remisji, było istotnie niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazałam dodatnią korelację pomiędzy obecnością zmian w jamie ustnej u chorych na ChL-C a: stężeniem hemoglobiny, wartością hematokrytu, liczbą płytek krwi, stężeniem CRP, fibrynogenu i albumin w surowicy, podwyższonym stężeniem IL-6 i TNF- $\alpha$  w ślinie i wartościami BMI. Wykazałam ponadto, że cytokiny badane w ślinie mogą być przydatnym biomarkerem aktywności choroby. Zwróciłam też uwagę na fakt, że ponieważ co dziesiąty chory z aktywną ChL-C może mieć swoiste dla tej choroby zmiany w jamie ustnej, stąd podczas badania chorego powinno być także uwzględnione dokładne oglądanie jamy ustnej, a w razie wątpliwości konsultacja stomatologiczna.

Wyniki dotyczące częstości choroby próchnicowej i ognisk zapalnych w jamie ustnej u chorych z ChL-C opublikowałam w 2011 r., natomiast wyniki moich badań prezentowane w pracy doktorskiej, która miała postać manuskryptu-monografii, opublikowałam w 2012 r. w



Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej i przedstawiam je w opisie osiągnięć naukowych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Ponadto wyniki prezentowałam podczas konferencji naukowej, a także wykładu.

Publikacja:

1. **Szczeklik K**, Jędrychowska P, Pawłowska K, Pytko-Polończyk J. Carious disease and potential infectious foci in patients with Crohn's disease. **Journal of Stomatology**. 2011; 64(11): 838-850. **Punktacja MNiSW: 5.**

Prezentacje konferencyjne:

1. **K. Szczeklik** "Choroba Leśniowskiego-Crohna z lokalizacją zmian w jamie ustnej", XIX Naukowo-szkoleniowe Sympozjum Lekarzy Stomatologów - sesja młodych pracowników nauki. Zakopane 16-17.09.2010

Wykład:

1. **Szczeklik K.** "Zmiany chorobowe w jamie ustnej a stężenie w ślinie wybranych cytokin u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna", Towarzystwo Lekarskie Krakowskie, posiedzenie naukowe, Kraków, 1.06.2011.

Osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

**I. Badania nad zachowaniem się cytokin IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 i TNF- $\alpha$  w ślinie chorych z chorobą Leśniowskiego-Crohna**

Wyniki moich badań, które stanowiły podstawę pracy doktorskiej, zostały opublikowane rok po obronie w Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej (2012 r.), ale też prezentowane podczas kongresu naukowego. Celem tych badań była ocena częstości występowania zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z aktywną i nieaktywną ChL-C i ocena, czy występujące w ślinie tych chorych cytokiny prozapalne takie, jak IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$  oraz IL-10 są związane z aktywnością choroby i manifestacją zmian w jamie ustnej. Wykazałam, że stężenie IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$  jest podwyższone w ślinie chorych z aktywną ChL-C w porównaniu do tych z nieaktywną i grupy kontrolnej i korelowało z markerami zapalnymi choroby i obecnością zmian w jamie ustnej potwierdzając, że jama ustna uczestniczy w procesie zapalnym chorych z ChL-C. Wykazałam ponadto, że cytokiny badane w ślinie, która jest łatwo dostępnym płynem ustrojowym, mogą być przydatnym biomarkerem aktywności choroby. Zwróciłam też uwagę na fakt, że ponieważ co dziesiąty chory z aktywną ChL-C może mieć swoiste dla tej choroby zmiany w obrębie jamy ustnej, stąd podczas badania podmiotowego powinno się dokładnie dowiedzieć od chorego o jego dolegliwościach także dotyczących przewodu pokarmowego, a w szczegółowym badaniu przedmiotowym powinien lekarz uwzględnić dokładne oglądanie jamy ustnej.

Publikacja:

1. **Szczeklik K**, Owczarek D, Pytko-Polończyk J, Kęsek B, Mach TH. Proinflammatory cytokines in the saliva of patients with active and non-active Crohn's disease. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej** 2012; 122(5): 200-208. **IF: 1.833. Punktacja MNiSW: 10.**

Prezentacja konferencyjna:

1. **Szczeklik K**, Owczarek D, Pytko-Polończyk J, Darczuk D. 2012. Cytokiny prozapalne (IL-1beta, IL-6, TNF-alfa) w ślinie chorych na aktywną i nieaktywną chorobę Leśniowskiego-Crohna. XV Kongres PTG-E, Kraków. **Gastroenterologia Polska**. 2012; 19(supl. 1): 36, abstr. P4-15.

## II. **Badania nad częstością występowania zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z chorobą Leśniowskiego-Crohna**

Badania dotyczące występowania zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z ChL-C prowadziłam w okresie przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora i kontynuowałam w latach 2012-2017. Efektem była 1 publikacja oryginalna, 1 krótki komunikat o charakterze poglądowym oraz 2 prezentacje na konferencjach naukowych.

### Publikacja oryginalna:

1. **Szczeklik K**, Pytko-Polończyk J, Cibor D, Owczarek D, Mach T. Oral mucosa lesions in patients with active Crohn's disease - a prospective study. **Przegląd Lekarski**. 2017; 74(2): 57-61. **Punktacja MNiSW: 10.**

### Krótki komunikat:

1. Mach T, **Szczeklik K**. Crohn's disease and its oral manifestations. **Journal of Gastroenterology, Hepatology and Endoscopy**. 2017; 2(2): 1012.

### Prezentacje konferencyjne:

1. **Szczeklik K**, Owczarek D, Pytko-Polończyk J, Kęsek B. Prospektywna ocena zmian w jamie ustnej u chorych z aktywną i nieaktywną chorobą Leśniowskiego-Crohna. **Gastroenterologia Polska**, 2012; 19(supl. 1): 36, abstr. P4-14. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Kraków, 4-6 października 2012 r.
2. Nowakowski J, Zwolińska-Wcisło M, **Szczeklik K**, Przybylska-Feluś M. Aphthous ulcers in Crohn's disease - a bad omen? **Prz. Lek.** 2014; 71(supl. 1): 44, abstr. 110 Międzynarodowa Konferencja Naukowa Studentów Uczelni Medycznych, Kraków, 10-12 kwietnia 2014.

## III. **Badania nad występowaniem próchnicy u dzieci oraz ich świadomością w zakresie chorób jamy ustnej**

Choroba próchnicowa jest poważnym problemem zdrowotnym i jedną z częściej występujących chorób u dzieci, stąd wraz ze studentami Koła Naukowego przy Zakładzie Stomatologii Zintegrowanej IS UJ CM przeprowadziłam ocenę występowania i zaawansowania próchnicy zębów mlecznych u ponad 300 dzieci w wieku przedszkolnym zamieszkujących województwo małopolskie. Następowo przeprowadziliśmy drugi projekt - ocenę stanu wiedzy dzieci i młodzieży z małopolskich przedszkoli, szkół i domów dziecka w zakresie higieny i profilaktyki chorób jamy ustnej z jednoczesną oceną stanu zdrowia ich jamy ustnej. Zbadano 119 dzieci z ośrodków wychowawczych oraz 62 osób niebędących wychowankami domów dziecka. Pomimo istnienia programów profilaktycznych dedykowanych wychowankom domów dziecka, ich świadomość i zdrowie jamy ustnej są nadal niezadowolające i gorsze w stosunku do badanych z grupy kontrolnej. Wskazane jest dodatkowe motywowanie dzieci

przez ich opiekunów celem poprawy higieny jamy ustnej oraz wzbogacenie programów profilaktycznych o wizytę stomatologa i okresowe przeglądy dentystyczne.

Efektom zrealizowanych projektów była praca oryginalna, a także doniesienie konferencyjne.

#### Publikacja:

1. **Szczeklik K**, Paruzel-Pliskowska A, Wojdyła K, Fano A, Przeklasa A, Wójcik AM, Sekuła S, Ryniewicz J, Pytko-Polończyk J. Częstość występowania próchnicy zębów mlecznych i wskaźniki jej leczenia u dzieci w wieku przedszkolnym z różnych środowisk województwa małopolskiego. **Stomatologia Współczesna**. 2014; 21(4): 8-15. **Punktacja MNiSW: 3.**

#### Prezentacja konferencyjna:

1. Przeklasa-Bierowiec A, Stempniewicz A, Kliś K, **Szczeklik K**, Jakubik A, Duszyk K, Romańczyk A, Pytko-Polończyk J; 2018; Stan zdrowia jamy ustnej oraz świadomość w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej u dzieci i młodzieży z krakowskich szkół i domów dziecka. IV Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Stomatologii Dziecięcej "Pedo & Ortho", Kraków, 25-26.05.2018.

#### **IV. Badania ankietowe oceniające świadomość kobiet w ciąży na temat profilaktyki zdrowia jamy ustnej**

Wcześniejsze badania przeprowadzone u dzieci w wieku przedszkolnym z różnych środowisk województwa małopolskiego (temat opisany powyżej) wskazały na niezadowalający stan zdrowia uzębienia mlecznego u dzieci. Wyniki te skłoniły mnie do zainteresowania się stanem świadomości przyszłych matek w zakresie opieki stomatologicznej i profilaktyki chorób jamy ustnej. Niewłaściwa opieka stomatologiczna u kobiet w ciąży jest szeroko dyskutowana w piśmiennictwie, a dotychczasowe badania wskazują na zły stan zdrowia jamy ustnej wśród przyszłych matek, niską świadomość w tym zakresie, niską dostępność do akcji profilaktycznych i brak dostatecznych informacji ze strony personelu medycznego. Stąd przeprowadziłam ze studentami Koła Naukowego przy Instytucie Stomatologii UJ CM badania ankietowe u ponad stu trzydziestu kobiet ciężarnych z Krakowa i okolic celem scharakteryzowania głównych problemów stomatologicznych i oceny stanu ich wiedzy na temat profilaktyki chorób jamy ustnej. Stwierdziłyśmy, że kobiety zamieszkujące miasto miały lepszy dostęp do akcji informacyjnych dotyczących zdrowia jamy ustnej w okresie ciąży w porównaniu do mieszkanek wsi, a jako główne źródło wiedzy podały strony internetowe. Badania wykazały, że wiele kobiet nie posiada stosowanej wiedzy z zakresu higieny jamy ustnej i możliwości leczenia w okresie ciąży, a ponad połowa z nich nie dopatruje się związku między stanem jamy ustnej rodziców a zdrowiem dziecka, stąd uważam, że niezbędna jest edukacja przyszłych matek poprzez akcje profilaktyczne i lepszy nadzór w tym zakresie lekarzy rodzinnych, stomatologów, czy ginekologów.

Wyniki tych badań zostały przedstawione podczas Międzynarodowej Konferencji Naukowej Studentów Uczelni Medycznych w Krakowie oraz opublikowane. Badania z tego zakresu są kontynuowane i poszerzane, a wyniki są w trakcie opracowania.

Publikacja:

1. Przeklasa A, Jakubik A, **Szczeklik K**, Pytko-Polończyk J. Pregnant women's awareness of dental care with regard to oral health prophylaxis. **Journal of Stomatology**. 2015; 68(6): 690-702. **Punktacja MNiSW: 12.**

Prezentacja konferencyjna:

1. Wójcik AM, Fano A, Paśnik B, Przeklasa A, **Szczeklik K**. Awareness of pregnant women in the range of the oral cavity health prophylaxis. *Przeg Lek*. 2014; 71(supl.1): 35, abstr. 74. Międzynarodowa Konferencja Naukowa Studentów Uczelni Medycznych, Kraków, 10-12 kwietnia 2014.

**V. Badania wybranych problemów klinicznych u chorych z ziarniniakowatością z zapaleniem naczyń**

Badania te prowadziłam we współpracy z zespołem Kliniki Alergii i Immunologii II Katedry Chorób Wewnętrznych UJ CM w Krakowie. Wieloletnie doświadczenie tego zespołu w badaniach patogenezy, zaburzeń immunologicznych i lokalnych zmian patologicznych twarzy i szyi w tej rzadkiej chorobie immunologicznej, jaką jest ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (zespół Churg-Straussa), udokumentowane jest wieloma publikacjami. Jedne z badań, w których uczestniczyłam, dotyczyły oceny odpowiedzi limfocytów Treg i T2 w trwałej remisji choroby, w drugiej zaś pracy analizowałam jakość życia tych chorych. Mój udział w nich polegał na analizowaniu literatury, gromadzeniu wyników badań klinicznych i biochemicznych i współdziałanie w przygotowaniu manuskryptu. Efektem tych badań były przedstawione poniżej publikacje oryginalne:

Publikacje:

1. Sokołowska B, Szczeklik W, Piłat O, Wodkowski M, Pieczętka J, Gąsior J, **Szczeklik K**, Włodarczyk A, Pacułt K, Musiał J. The impact of current health-related quality of life on future health outlook in patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss syndrome). **Clinical Rheumatology**. 2013; 32(6): 779-785. **IF: 1.774. Punktacja MNiSW: 20.**
2. Szczeklik W, Jakieła B, Wawrzycka-Adamczyk K, Sanak M, Hubalewska-Mazgaj M, Padjas A, Surmiak M, **Szczeklik K**, Sznajd J, Musiał J. Skewing toward Treg and Th2 responses is a characteristic feature of sustained remission in ANCA-positive granulomatosis with polyangiitis. **European Journal of Immunology**. 2017; 47(4): 724-733. **IF: 4.248. Punktacja MNiSW: 35.**

Współpraca z Kliniką Alergii i Immunologii II Katedry Chorób Wewnętrznych UJ CM w Krakowie polegała także na podjęciu badań nad występowaniem i rodzajem zmian w obrębie jamy ustnej u chorych z rzadkim zespołem ziarniniakowatości z zapaleniem naczyń (GPA). Zmiany w obrębie jamy ustnej pacjentów z tą jednostką chorobową, mogą stanowić pierwszy objaw choroby w postaci rozrostu dziąseł zwanego „strawberry gingivitis”. Przeprowadziłam szczegółowe badania stomatologiczne wraz z obrazami stożkowej tomografii komputerowej (CBCT), a także wykonano badanie mikrobiologiczne wymazów z jamy ustnej. Próchnicę

zębów stwierdziłam u wszystkich pacjentów z GPA, średni wynik PUW wynosił 22. Ocena mikrobiologiczna wymazów z jamy ustnej nie wykazała obecności bakterii chorobotwórczych, u 66,7% pacjentów wyizolowano szczepy *Candida sp.* Obrazy CBCT wykazały uszkodzenie kości i zmiany zapalne w zatokach przynosowych u 55% pacjentów. Efektem moich badań była publikacja oryginalna oraz opis przypadku:

Publikacja:

1. **Szczeklik K**, Włodarczyk A, Wawrzycka-Adamczyk K, Górka J, Fuks-Kulska M, Darczuk D, Pytko-Polończyk J, Szczeklik W. Oral manifestations of granulomatosis with polyangiitis - Clinical and radiological assessment. *Journal of Dental Sciences*. 2018 Nov 27. doi.org/10.1016/j.jds.2018.10.004 IF: **0.619**. **Punktacja MNiSW: 15**.

Opis przypadku:

1. Wawrzycka K, **Szczeklik K**, Darczuk D, Lipska W, Szczeklik W, Musiał J. Strawberry gingivitis as the first manifestation of granulomatosis with polyangiitis. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. 2014; 124(10), 551-552. IF: **2,121**. **Punktacja MNiSW: 30**.

## VI. Manifestacje chorób przewodu pokarmowego w jamie ustnej

Jamę ustną można uznać za pierwszy odcinek przewodu pokarmowego i w obrębie jej tkanek mogą pojawiać się zmiany chorobowe w przebiegu schorzeń przewodu pokarmowego. Temat ten opisałam w publikacji poglądowej, a także przedstawiłam podczas trzech konferencji stomatologicznych.

Publikacja:

1. **Szczeklik K**. Choroby przewodu pokarmowego – objawy w jamie ustnej. *Medical Tribune Stomatologia* 2014; 5:12-15. **Punktacja MNiSW: 4**

Prezentacje konferencyjne ustne:

1. **Szczeklik K**. "Choroba Leśniowskiego-Crohna - to nie tylko problem gastroenterologów". Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Lekarzy Stomatologów, Ryto, 25-27.10.2013.
2. **Szczeklik K**. "Choroby przewodu pokarmowego – objawy w jamie ustnej", Zebranie Ogólne Krakowskiego Oddziału PTS, Kraków, 14.12.2013.
3. **Szczeklik K**. "Celiakia jako problem stomatologiczny", Zebranie Ogólne Krakowskiego Oddziału PTS, Kraków, 5.12.2015.

## VII. Badania nad wpływem wybranych leków na nasilenie bólu i inne objawy kliniczne chorych po ekstrakcji trzeciego zęba trzonowego żuchwy

Uczestniczyłam w dwóch badaniach klinicznych. W pierwszym oceniałam, czy prewencyjne podanie lornoksykamu zapewnia skuteczną analgezję pooperacyjną u chorych po usunięciu trzeciego zęba trzonowego żuchwy oraz czy zmniejsza konieczność przyjmowania leków przeciwbólowych. W drugiej pracy oceniałam wpływ podania podśluzówkowego deksametazonu na występujące pozabiegowego bólu, obrzęku oraz szczękoscisku u chorych po ekstrakcji zatrzymanych dolnych trzecich zębów trzonowych. Efektem tych badań były dwie publikacje oryginalne.

#### Publikacje:

1. Mojsa IM, Pokrowiecki R, Lipczynski K, Czerwonka D, **Szczeklik K**, Zaleska M. Effect of submucosal dexamethasone injection on postoperative pain, oedema, and trismus following mandibular third molar surgery: a prospective, randomized, double-blind clinical trial. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 2017; 46(4): 524-530. **IF: 2.164. Punktacja MNiSW: 30.**
2. Mojsa IM, Stypułkowska J, Novak P, Lipczynski K, **Szczeklik K**, Zaleska M. Pre-emptive analgesic effect of lornoxicam in mandibular third molar surgery: a prospective, randomized, double-blind clinical trial. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. 2017; 46(5): 614-620. **IF: 2.164. Punktacja MNiSW: 30.**

#### **VIII. Biegacze a stan zdrowia jamy ustnej**

Pomysł tych badań powstał w ramach działalności Studenckiego Koła Naukowego przy Instytucie Stomatologii UJ CM i wynikał z faktu, iż bieganie stało się obecnie jednym z najpopularniejszych sportów. W pracy przeprowadzonej z zastosowaniem własnej autorskiej ankiety, oceniliśmy świadomość biegaczy w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej oraz wpływu tego sportu na problemy stomatologiczne. Badaniem ankietowym objęliśmy 191 osób uprawiających biegi na różnych dystansach i o różnej częstotliwości. Kwestionariusz składał się z 26 pytań, dotyczących intensywności treningów, diety, stosowanej profilaktyki oraz obecności zmian patologicznych w zakresie jamy ustnej. Badania wykazały, że biegacze cechują się niskim poziomem świadomości w zakresie zdrowia jamy ustnej. Tylko 30% ankietowanych uważało, że bieganie ma wpływ na stan zdrowia jamy ustnej, a dbanie o higienę jamy ustnej polegało wyłącznie na używaniu szczoteczki do zębów. Ankietowani, u których wystąpiły po biegu zmiany w jamie ustnej spożywali głównie produkty białkowe. Wykazaliśmy, że u 11% trenujących czterokrotnie w tygodniu występowały bóle zębów w trakcie przyjmowania pokarmów, u 8% samoistne bóle zębów. Częstość występowania bólu samoistnego zależała od intensywności treningów oraz częstości szczotkowania zębów.

Wyniki zostały przedstawione i przedyskutowane podczas zjazdu Polskiego Towarzystwa Medycyny Sportowej oraz opublikowane w poniższej pracy. Badania te zostały poszerzone i nadal są realizowane celem oceny stanu zdrowia jamy ustnej tej grupy sportowców.

#### Publikacja:

1. Hoduń A, Jakubik A, Gawor A, Szymańska E, **Szczeklik K**, Przeklasa-Bierowiec A, Pytko-Polończyk J. Świadomość biegaczy w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej. **Medicina Sportiva Practica**. 2018; 19(2): 26-33. **Punktacja MNiSW: 6.**

#### Prezentacja konferencyjna:

1. Hoduń A, Szymańska E, Gawor A, Jakubik A, **Szczeklik K**, Pytko-Polończyk J. Świadomość biegaczy w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej. XXXII Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Medycyny Sportowej Wrocław, 12-14.10.2017.

## IX. Badania nad występowaniem próchnicy u chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna i ekspresją IL-6 i TNF- $\alpha$ w ślinie tych chorych

Próchnica zębów jest jedną z najczęstszych przewlekłych chorób zapalnych człowieka i stanowi problem globalny. Choroba ta występuje nieco częściej u chorych na nieswoiste zapalenia jelit, a powodem może być nieprawidłowe odżywianie, zaniedbania higieniczne, przewlekłe stosowanie leków immunosupresyjnych. Z uwagi na częstą nietolerancję niektórych pokarmów, chorzy z ChL-C preferują węglowodany i łatwą do strawienia żywność, które mogą być czynnikami ryzyka próchnicy. Przeprowadziłam badania, których celem była ocena częstości występowania próchnicy zębów oraz nawyków higieny jamy ustnej u pacjentów z ChL-C żyjących na obszarach miejskich i wiejskich w południowej części Polski w porównaniu do grupy kontrolnej. Badania przeprowadziłam u 70 dorosłych pacjentów z ChL-C i 61 ochotników, 52% pacjentów mieszkało w miastach, pozostali w regionach wiejskich województwa małopolskiego. Przeanalizowałam szereg czynników klinicznych, w tym BMI, stężenia hemoglobiny i CRP, przeprowadziłam szczegółowe badanie stomatologiczne z oceną nawyków higieny jamy ustnej, obliczałam wskaźnik PUW. Stwierdziłam, że PUW było wyższe u pacjentów z ChL-C w wieku średnim mieszkających na południu Polski w porównaniu do grupy kontrolnej bez ChL-C. Częstość występowania próchnicy i prawidłowych nawyków higieny jamy ustnej u chorych była porównywalna u pacjentów mieszkających w miastach i na obszarach wiejskich.

Próchnica zębów posiada negatywny wpływ na wiele chorób, w tym na ChL-C. Stwierdzono, że stężenie niektórych cytokin jest podwyższone w ślinie zarówno pacjentów z ChL-C, ale także u osób bez ChL-C z chorobą próchnicową, przy czym te relacje nie są wyjaśnione. Celem moich badań była ocena, jak zachowuje się stężenie IL-6 i TNF- $\alpha$  w ślinie pacjentów z ChL-C i z próchnicą zębów i czy poziom tych zmian może być związany z zaawansowaniem choroby próchnicowej ocenianej na podstawie wskaźnika PUW. Badania przeprowadziłam u 48 chorych z ChL-C i 41 zdrowych osób. Badałam szybkość wydzielania niestymulowanej śliny, jej pH i stężenie w ślinie IL-6 i TNF- $\alpha$ . Wykazałam, że poziom IL-6 i TNF- $\alpha$  w ślinie pacjentów z ChL-C był wyższy niż w grupie kontrolnej oraz w podgrupie pacjentów z wysokim PUW w porównaniu z niskim PUW. Szybkość wyptywu śliny i jej pH były niższe u pacjentów w porównaniu do grupy kontrolnej. Czas trwania ChL-C, poziom wskaźnika zapalnego choroby CDAI, stężenie CRP we krwi i IL-6 i TNF- $\alpha$  w ślinie dodatnio korelowały z PUW. W badaniu tym potwierdziłam stosunkowo dużą częstość występowania choroby próchnicowej, a zwiększone stężenia obu cytokin prozapalnych w ślinie korelowały z bardziej zaawansowaną próchnicą zębów u tych chorych. Uważam, że dalsze badania powinny wyjaśnić wpływ innych czynników na zachowanie się tych cytokin w ślinie chorych z ChL-C z próchnicą i rolę infekcji miazgi zęba w tym procesie. Efektem tych badań były dwie publikacje oryginalne.

### Publikacje:

1. **Szczeklik K**, Owczarek D, Żarow M, Pytko-Polończyk J, Mach T. Prevalence of dental caries and oral hygiene habits in patients with Crohn's disease living in urban and rural regions of southern Poland. **Medicina Internacia Revuo**. 2017; 27(4): 280-287. **Punktacja MNiSW: 8.**

2. **Szczeklik K**, Owczarek D, Pytko-Polończyk J, Cibor D, Mach T. Increased expression of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in saliva of patients with dental caries and Crohn's disease. **Przegląd Lekarski**. 2018; 75(9): 425-430. **Punktacja MNiSW: 10.**

#### **X. Badania niektórych wskaźników procesu zapalnego i zaburzeń mikrobioty jamy ustnej u chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit**

W ostatnich latach, kontynuując problematykę zaburzeń procesu zapalnego u chorych z NZJ, rozpoczęłam badania nad zachowaniem się mikrobioty jamy ustnej w tej grupie chorych we współpracy z Zakładem Diagnostyki Medycznej Wydziału Farmacji UJ CM. Celem tych badań było dalsze analizowanie występowania potencjalnych biomarkerów aktywności ChL-C we krwi i ślinie chorych, poszerzone o pilotażowe badania mikrobioty jamy ustnej nie tylko u chorych z ChL-C, ale także we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego (WZGJ). Badania te kontynuuję z uwagi na uzyskanie interesujących wstępnych wyników oraz wzrastające zainteresowania nie tylko mikrobiotą jelit, ale także jamy ustnej w tej grupie chorych i wzajemnymi zależnościami, w tym z nasileniem procesu zapalnego jelit.

Dotychczasowe badania ujawniły interakcje między mikrobiotą jamy ustnej a chorobami układowymi, stąd podjęłam badania składu mikrobioty jamy ustnej w zależności od aktywności antyoksydacyjnej śliny i krwi oraz stanu klinicznego chorych z ChL-C i WZJG w porównaniu do grupy kontrolnej. Badałam morfologię krwi i CRP w surowicy, potencjał antyoksydacyjny (FRAP) w surowicy i ślinie, pobierałam wymazy z błony śluzowej policzka i języka, które były analizowane metodami mikrobiologicznymi z identyfikacją bakterii metodą MALDI-TOF. Mikroflora jamy ustnej chorych z ChL-C charakteryzowała się mniejszą różnorodnością w porównaniu z WZJG, co korelowało ze zmniejszonym FRAP w ślinie i nasilonym zapaleniem ogólnoustrojowym; w ChL-C FRAP w ślinie i surowicy ujemnie korelował z CRP w surowicy. Na podstawie tych wstępnych badań sądzę, że analiza zarówno składu mikrobioty, jak i aktywności antyoksydacyjnej jamy ustnej w odniesieniu do ogólnoustrojowego procesu zapalnego może okazać się pomocna w lepszym rozumieniu związku zaburzeń mikrobioty jamy ustnej z rozwojem ChL-C i WZJG i podtrzymywaniem procesu chorobowego. Efektem tych badań były 1 prezentacja na konferencji i 2 publikacje oryginalne.

#### Publikacje:

1. **Szczeklik K**, Krzyściak W, Cibor D, Kozioł K, Pocztar H, Pytko-Polończyk J, Mach T, Owczarek D. Evaluation of plasma concentrations of selected antioxidant parameters in patients with active Crohn's disease. **Folia Medica Cracoviensia**. 2018; 58(2): 119-130. **Punktacja MNiSW: 10.**
2. **Szczeklik K**, Owczarek D, Cibor D, Cześnikiewicz-Guzik M, Krzyściak P, Krawczyk A, Mach T, Karczewska E, Krzyściak W. Relative homogeneity of oral bacterial flora in Crohn's disease compared to ulcerative colitis and its connections with antioxidant defense—preliminary report. **Folia Medica Cracoviensia**. 2019; 59(1): 1-27. doi: 10.24425/fmc.2019.128023. **MNiSW: 10.**



#### Prezentacja konferencyjna:

1. **Szczeklik K**, Krzyściak W, Domagała-Rodacka R, Cibor D, Mach T, Owczarek D. Lipid peroxidation levels and antioxidant status in serum, plasma and saliva of patients with active and inactive Crohn's disease. 12th Congress of ECCO, Barcelona, Spain, February 15-18, 2017. J. Crohns Colitis. 2017; 11(Suppl. 1): S223, abstr. P287.

#### **XI. Badania nad zachowaniem się niektórych czynników patogenetycznych w nieswoistych zapaleniach jelit**

Kolejnym obszarem moich zainteresowań były badania niektórych czynników, które biorą udział w procesie zapalnym w nieswoistych chorobach zapalnych jelit (NZJ), tj. w ChL-C i wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego (WZJG). Jednym z tych aktywnych biologicznie substancji jest insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF 1), który bierze udział w modulacji odporności i zapalenia, odgrywa też rolę w regulacji migracji komórek śródbłonna i wytwarzaniu środków wazoaktywnych. Przeprowadziłam badania oceniające zachowanie się stężenia IGF 1 i białka 3 wiążącego IGF-1 (IGFBP 3) w surowicy chorych oraz ich związek z aktywnością choroby u 129 dorosłych pacjentów z NZJ (69 z ChL-C i 60 z WZJG) i z grupą kontrolną (n=31). Stwierdziłam, że u chorych z aktywnymi ChL-C i WZJG poziomy IGF 1 oraz IGFBP 3 były niższe w porównaniu z chorobami nieaktywnymi i kontrolą. IGF 1 korelował ujemnie ze stężeniem surowiczym CRP, ważnym wskaźnikiem procesu zapalnego. W badaniach tych wykazałam, że system IGF jest zaburzony w NZJ i zależy od aktywności choroby i czasu jej trwania.

#### Publikacja:

1. Krakowska-Stasiak M, Cibor D, Domagała-Rodacka R, Sałapa K, **Szczeklik K**, Owczarek D. Insulin-like growth factor system in remission and flare of inflammatory bowel diseases. **Polish Archives of Internal Medicine**. 2017; 127(12): 832-839. IF: 2.658. **Punktacja MNiSW: 30.**

Kolejne badania przeprowadziłam w związku z faktem, że etiopatogeneza NZJ i powikłań zakrzepowo-zatorowych jest słabo poznana, a uwzględnia się w tych chorobach dysfunkcję śródbłonna. Funkcja śródbłonna naczyniowego jest aktywowana w wielu chorobach zapalnych i dotyczy zmian jego struktury i czynności, a sam śródbłonek jest głównym efektem odpowiedzi zapalnej i aktywuje kaskadę krzepnięcia. Aktywowany śródbłonek uwalnia czynniki pro- i antykoagulacyjne, w tym czynnika von Willebranda i inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI), a trzy mechanizmy antykoagulacyjne kontrolujące krzepnięcie krwi obejmują trzy szlaki - heparyna-antytrrombina, antykoagulacyjny białka C i TFPI. Komórki śródbłonna nie posiadają ekspresji czynnika tkankowego TF, ale w stanie zapalnym charakteryzującym się produkcją cytokin i mediatorów dochodzi do stymulacji syntezy i ekspresji TF. Analiza piśmiennictwa wskazuje, że dysfunkcja śródbłonna jest zaangażowana w patogenezę NZJ i towarzyszące powikłania zakrzepowo-zatorowe, a ponieważ proces zapalny stymuluje ekspresję TF i TFPI przez endotelium, stąd celem moich badań było zmierzenie stężeń całkowitego i wolnego TFPI u chorych z NZJ aby ocenić, czy

zmiany TFPI mogą odzwierciedlać aktywność choroby i/lub rozwój powikłań klinicznych. Badaniami objęłam 50 chorych z WZJG, 50 z ChL-C i 31 grupy kontrolnej. Oznaczałam stężenie całkowitego i wolnego TFPI oraz czynnika von Willebranda w surowicy. Mediany obu TFPI były wyższe w NZJ niż w grupie kontrolnej, a wolny TFPI był wyższy u pacjentów z aktywnymi i nieaktywnymi WZJG i ChL-C w porównaniu do grupy kontrolnej. U chorych poziomy wolnego TFPI korelowały z poziomami markerów zapalnych i aktywnością NZJ. Poziom czynnika von Willebranda istotnie był wyższy u pacjentów z WZJG i ChL-C niż w grupie kontrolnej. Na podstawie tych badań wnioskuję, że szlak antykoagulacyjny TFPI jest aktywowany podczas zaostrzenia i remisji u chorych z NZJ, a poziom wolnego TFPI koreluje z biochemicznymi markerami zapalenia i aktywnością choroby. Wyniki tych badań ostatnio opublikowałam w Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej w 2019 r.

Publikacja:

1. Cibor D, **Szczeklik K**, Mach T, Owczarek D. Tissue factor pathway inhibitor levels in patients with inflammatory bowel diseases. **Polish Archives of Internal Medicine**. 2019 March 07; DOI: 10.20452/pamw.4481. **IF: 2.658. Punktacja MNiSW: 30.**

W kilku dalszych badaniach oceniałam zachowanie się niektórych substancji uczestniczących w procesach zapalnych u chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit. Badałam stężenia greliny, białka wiążącego Mac-2 i galektyn w surowicy chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit. Wykazałam, że są one znacznie podwyższone w surowicy chorych z WZJG i ChL-C w okresie aktywności choroby w porównaniu do okresu remisji i grupy kontrolnej. Wyniki tych badań opublikowałam i prezentowałam podczas konferencji doktorantów oraz na Kongresie ECCO w Kopenhadze.

Publikacja:

1. Cibor D, Kozioł K, **Szczeklik K**, Sałapa K, Mach T, Owczarek D. Serum ghrelin levels in patients with inflammatory bowel diseases as depending on the disease activity and body mass index. **Przegląd Lekarski**. 2019; 76(2): 668-673. **Punktacja MNiSW: 10.**

Prezentacje konferencyjne:

1. Domagała-Rodacka R, Cibor D, **Szczeklik K**, Mach T, Owczarek D. 2018. Znaczenie Mac-2 białka wiążącego (M2BP) w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. VIII Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum, Kraków, 19.05.2018. Zesz. Nauk. Tow. Doktorantów Uniw. Jagiell., Nauki Ścisłe 2018; 1: 35.
2. Cibor D, **Szczeklik K**, Owczarek D, Mach T: Galectin-3, galectin-9 and galectin-3 binding protein in patients with inflammatory bowel diseases. 14th, Congress of ECCO, Copenhagen, Denmark, March 6-9, 2019; J Crohn Colitis, 2019; 13/S1, s096, abstract P022.

## **XII. Badania nad związkiem chorób przyzębia z chorobami innych narządów**

Związek chorób przyzębia z chorobami ogólnoustrojowymi jest bezdyskusyjnie ważnym tematem i w odniesieniu do niektórych chorób dobrze udokumentowanym. Zmiany zapalne w obrębie tkanek przyzębia stanowią źródło bakterii, produktów ich metabolizmu

oraz mediatorów zapalnych, co skutkuje ryzykiem wystąpienia patologii w odległych narządach lub modyfikuje przebieg poszczególnych schorzeń. Wraz z zespołem badaczy oceniałam związek pomiędzy zaawansowaniem periodontopatii a cukrzycą typu 2 u chorych z krwawieniem z dziąseł podczas szczotkowania zębów. Zaobserwowałam wyższe wartości wskaźników periodontologicznych CPITN, PPD, CAL u pacjentów z cukrzycą typu 2. Nie obserwowałam znamienych korelacji pomiędzy stężeniem glukozy w surowicy na czczo a zaawansowaniem choroby przyzębia. Podczas Kongresu Stomatologów Polskich w 2014 r. prezentowałam także wyniki innych badań - zależności nasilenia choroby przyzębia z miażdżycą u chorych z periodontopatią. Efektem końcowym była publikacja oryginalna oraz doniesienie konferencyjne.

#### Publikacja:

1. Cześniakiewicz-Guzik M, Osmenda G, **Szczeklik K**, Furtak A, Nowakowski D, Drożdż M, Wilk G, Nosalski R, Szczepaniak P, Batko B, Mikołajczyk TP, Guzik T. Association between periodontal tissue status and diabetes mellitus in patients with bleeding while brushing. **Przegląd Lekarski**. 2019; 76(1): 7-12. **Punktacja MNiSW: 10.**

#### Prezentacja konferencyjna:

1. Cabała A, **Szczeklik K**, Darczuk D, Kęsek B, Chomyszyn-Gajewska M. Zależność pomiędzy stopniem zaawansowania choroby przyzębia a rozwojem zmian miażdżycowych u chorych z periodontopatią. *J. Stomatol.* 2014; 67(supl. 1): 61-62, abstr. R-53. 12 Kongres Stomatologów Polskich, Kraków, 9-12 kwietnia 2014.

### **XIII. Badania nad świadomością studentów na temat profilaktyki stomatologicznej**

Prowadząc studenckie Koło Naukowe przy Instytucie Stomatologii UJ CM zrealizowałam ze studentami dwa projekty badawcze dotyczące profilaktyki stomatologicznej. Celem pierwszego z nich było porównanie świadomości studentów na temat profilaktyki stomatologicznej i nawyków prozdrowotnych wśród studentów różnych kierunków studiów (lekarsko-dentystyczny, lekarski i kierunki techniczne). Zastosowaliśmy autorską ankietę złożoną z 28 pytań dotyczących wiedzy na temat profilaktyki stomatologicznej, nawyków higienicznych i ich powiązania ze zdrowiem ogólnym; w badaniu wzięło udział 438 studentów. Tematykę ankiety podzieliliśmy na 4 grupy: pierwsza dotyczyła wizyt u stomatologa, regularności i motywacji, obecności lęku przed dentystą, instruktażu higieny, kolejna świadomości zdrowia i wpływu chorób jamy ustnej na ogólny stan zdrowia, spożywanych węglowodanów na rozwój próchnicy, diety kobiety ciężarnej na rozwój zębów dziecka i znajomości pojęć: fluoryzacja, skaling, piaskowanie. W trzeciej grupie pytania obejmowały ocenę własnego stanu zębów, higieny i nieswieżego oddechu, a czwarta - pytania o nawyki higieniczne, stosowane przybory i metody szczotkowania, palenie papierosów. W badaniach tych wykazaliśmy, że studenci stomatologii i medycyny cechowali się lepszą świadomością profilaktyki stomatologicznej niż studenci kierunków technicznych, 63,1% studentów medycyny i 41,1% studentów kierunków technicznych oceniło swoją świadomość jako bardzo dobrą lub dobrą. W grupie studentów kierunku lekarskiego jedyne różnice dotyczyły znajomości terminologii zabiegów profilaktycznych, a ogólna ich świadomość na temat

profilaktyki była nieznacznie wyższa niż studentów kierunku technicznego. Wyniki zostały przedstawione w publikacji. Natomiast drugi projekt obejmował problem obciążenia stresem studentów stomatologii i jest aktualnie w toku, przedstawiono wstępne doniesienie konferencyjne uwzględniające przegląd piśmiennictwa.

Publikacja:

1. Loster Z, Gut A, Zawada M, **Szczeklik K**, Jakubik A, Pytko-Polończyk J. Development of dental awareness concerning oral health behavior among students of selected universities in Krakow. **Przegląd Lekarski**. 2018; 75(11), 527-532. **Punktacja MNiSW: 10.**

Prezentacja konferencyjna:

1. Smolana A, Bandała N, Banaś J, Loster Z, **Szczeklik K**, Olszewska K, Loster JE; 2018; Ocena obciążenia stresem studentów stomatologii-przegląd piśmiennictwa. X Międzynarodowe Sympozjum Fizykodiagnostyki i Fizjoterapii Stomatologicznej i Medycznej "Stomatologia nauką interdyscyplinarną", Międzyzdroje, Polska, 24–27.05.2018.

#### **XIV. Opracowanie interesujących przypadków stomatologicznych**

W trzech publikacjach przedstawiłam przypadki kliniczne obserwowane w własnej pracy lekarskiej w UJ CM. Publikacja nr 2 była efektem współpracy międzynarodowej Instytutu Stomatologii UJ CM z Zakładem Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji Uniwersytetu G.D'Annunzio w Chieti we Włoszech.

W pierwszej pracy kazuistycznej przedstawiłam 3 pacjentów z pomyślnym leczeniem wgłobionych zębów. Ząb wgłobiony (ząb w zębie) najczęściej dotyczy zębów bocznych siecznych szczęki i prawdopodobnie jest wynikiem zagięcia czy załamania brodawki zębowej w czasie jej rozwoju. Badanie radiologiczne umożliwia rozpoznanie tej patologii. Miejsce wgłobienia jest obszarem zwiększonej retencji płytki nazębnej i predysponuje do rozwoju procesu próchnicowego z następstwami w postaci chorób miazgi i zapaleń tkanek okołowierzchołkowych. Złożona budowa anatomiczna tych zębów utrudnia leczenie endodontyczne szczególnie przy nieuformowanym wierzchołku korzenia. Zęby wgłobione mogą być przyczyną zaburzeń estetycznych a także i zaburzeń zgryzu. Często wywołują dolegliwości bólowe powodowane rozwojem choroby próchnicowej. Niejednokrotnie stwarzają trudności diagnostyczne i terapeutyczne, stąd ważne jest wczesne rozpoznanie zębów wgłobionych i wdrożenie odpowiedniego leczenia.

W kolejnej pracy przedstawiono opis pacjentki ze przebarwieniem zęba 21, 16 lat po przeprowadzonym leczeniu endodontycznym. Opisano zaakceptowane przez pacjentkę leczenie wraz z uzyskaniem zadowalającego końcowego efektu estetycznego.

Ze względu na występowanie białych plam w obrębie zębów stałych, które mogą być leczone poprzez zabiegi wybielania i inne metody inwazyjne jak zastosowanie licówek, alternatywnym rozwiązaniem jest stosowanie infiltracji tkanek żywicą Icon DMG. W pracy przedstawiono dwa przypadki kliniczne tego nieinwazyjnego i skutecznego postępowania.

Kolejnym przypadkiem klinicznym był opis pacjenta dotkniętego przez los, artysty, który bez użycia rąk podczas malowania, trzymał pędzel w zaciśniętych ustach. Poprzez utrzymywanie w ten sposób ciała obcego w jamie ustnej, pacjent był narażony na

występowanie zmian patologicznych w postaci starcia twardych tkanek zębów, czy zmian urazowych na błonie śluzowej jamy ustnej, które przedstawiono podczas konferencji międzynarodowej.

Prace kazuistyczne:

1. Ciepły J, **Szczeklik K**, Jurczak A. Zęby wgłobione - opis przypadków. **Poradnik Stomatologiczny**. 2012; 12(1): 44-50. **Punktacja MNiSW: 3.**
2. Żarow M, **Szczeklik K**. Faccette dirette in composito come prevenzione della discolorazione dopo lo sbiancamento di denti non vitali. Direct composite veneer as a prevention for discoloration recurrence after non-vital tooth bleaching. Case report. **Il Dentista Moderno**. 2015: 156-162.
3. Paruzel-Pliskowska A, Kuszaj M, **Szczeklik K**, Wróbel P, Pytko-Polończyk J. Zastosowanie metody infiltracji metodą żywicy- opis dwóch przypadków. **Stomatologia Współczesna**. 2018; 24(2): 39-43. **Punktacja MNiSW: 4.**

Prezentacja konferencyjna:

1. Jakubik A, Przeklasa-Bierowiec A, **Szczeklik K**, Pytko-Polończyk J; 2016; Pathological tooth wear among mouth painting artists with disabilities. 1-st International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences, Poprad - Slovakia, 22-24.07. 2016.

## **XV. Prace o charakterze edukacyjnym**

W ramach zainteresowania chorobami przewodu pokarmowego, a także śliną, jako cennym materiałem diagnostycznym, przygotowałam 5 opracowań o charakterze edukacyjnym, które były kierowane do lekarzy różnych specjalności.

Publikacje

1. Mach T, **Szczeklik K**. Diagnostyka i leczenie zakażenia *Clostridium difficile*. **Terapia**. 2014; 22(6): 27-32. **Punktacja MNiSW: 5.**
2. **Szczeklik K**. Choroby przewodu pokarmowego – objawy w jamie ustnej. **Medical Tribune Stomatologia** 2014; 5:12-15. **Punktacja MNiSW: 4**
3. **Szczeklik K**. Ślina - dobry materiał diagnostyczny. **Medical Tribune (Warsz.)**. 2015; 4: 8-11. **Punktacja MNiSW: 2.**
4. Domagała-Rodacka R, Cibor D, **Szczeklik K**, Rodacki T, Mach T, Owczarek D. Gastrointestinal tract as a side-effect target of medications. **Przegląd Lekarski**. 2016; 73(9): 652-658. **Punktacja MNiSW: 10.**
5. Mach T, **Szczeklik K**. Algorytmy postępowania w ostrej bieguncie infekcyjnej. **Zakażenia XXI Wieku**. 2018; 1(5), 245-252.

Analiza całkowitego dorobku naukowego przy składaniu wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego (wg Biblioteki Medycznej UJ CM, stan na dzień 27.03.2019 r.)

Rodzaj publikacji	Ogółem	Po doktoracie	Jako pierwszy autor	MNiSW	IF
Prace oryginalne	25	24	12	386	26,756
Praca oryginalna w suplemencie czasopisma	1	-	-	25	2,974
Opisy przypadków	8	4	2	55	2,121
Prace poglądowe	8	7	2	37	-
Razem	<b>42</b>	<b>35</b>	<b>16</b>	<b>503</b>	<b>31,851</b>

### Zrealizowane projekty badawcze

#### I. Projekt realizowany w ramach współpracy z Uniwersytetem w Chieti, Włochy:

Tytuł: „Ocena szczelności brzeżnej nakładów kompozytowych typu onlay/overlay cementowanych na światłoutwardzalnym materiale z żywicy kompozytowej – obserwacje w SEM – 4-6 lat od osadzenia”. Realizacja projektu: 2015 rok. Projekt realizowany w ramach współpracy międzynarodowej pomiędzy Zakładem Stomatologii Zintegrowanej UJ CM w Krakowie i Zakładem Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji Uniwersytetu G. D’Annunzio w Chieti we Włoszech; udział habilitanta w projekcie - współbadacz. Projekt zakończony publikacją: Żarow M, Szczeklik K. Direct composite veneer as a prevention for discoloration recurrence after non-vital tooth bleaching - case report. *Ildentistamoderno*; 2015 Settembre: 126-134.

#### II. Projekty realizowane w ramach działalności własnej UJ CM:

1. Tytuł: "Zmiany w obrębie jamy ustnej u chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna i wydzielanie miejscowe cytokin IL-beta, IL- 6 i TNF alfa". Numer projektu: K/ZDS/003342. Lata 2011-2013 r.; udział habilitanta w projekcie - kierownik projektu. Projekt zakończony 1) rozprawą doktorską: Szczeklik K. pt. „Zmiany chorobowe w jamie ustnej a stężenie w ślinie wybranych cytokin u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna", WL UJ CM, Kraków i 2) publikacją: **Szczeklik K**, Owczarek D, Pytko-Polończyk J, Kęsek B, Mach TH. Proinflammatory cytokines in the saliva of patients with active and non-active Crohn's disease. *Pol Arch Med Wew.* 2012; 122(5): 200-208; **IF=1.833; punktacja MNiSW: 10.**
2. Tytuł: "Zmiany w jamie ustnej u pacjentów z ziarniniakowatością z zapaleniem naczyń (Wegenera)". Symbol projektu: K/ZDS/004590. Lata 2014 – 2015; udział habilitanta w projekcie - kierownik projektu. Projekt zakończony publikacją: **Szczeklik K**, Włodarczyk A, Wawrzycka-Adamczyk K, Górka J, Fuks-Kulska M, Darczuk D, Pytko-Polończyk J, Szczeklik W. Oral manifestations of granulomatosis with polyangiitis - Clinical and radiological

assessment. *J Dental Sci.* 2018 Nov 27. doi.org/10.1016/j.jds.2018.10.004 IF: 0.619.  
**Punktacja MNiSW: 15.**

3. Tytuł: "Badania prospektywne dotyczące świadomości biegaczy w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej". Numer projektu K/ZDS/007170. Lata 2016 – 2017; udział habilitanta w projekcie – współbadacz. Projekt zakończony prezentacją i publikacją: 1) Hoduń A, Szymańska E, Gawor A, Jakubik A, **Szczeklik K**, Pytko-Polończyk J. Świadomość biegaczy w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej. XXXII Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Medycyny Sportowej Wrocław, 12-14.10.2017; 2) Hoduń A, Jakubik A, Gawor A, Szymańska E, **Szczeklik K**, Przeklasa-Bierowiec A, Pytko-Polończyk J. Świadomość biegaczy w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej. *Med Sportiva Practica.* 2018; 19(2): 26-33. **Punktacja MNiSW: 6.**
4. Tytuł: "Świadomość kobiet ciężarnych w zakresie profilaktyki chorób jamy ustnej – badania ankietowe". Numer projektu K/ZDS/007165. Rok 2017; udział habilitanta w projekcie – współbadacz. Projekt zakończony prezentacją i publikacją: 1) Wójcik AM, Fano A, Paśnik B, Przeklasa A, **Szczeklik K**. Awareness of pregnant women in the range of the oral cavity health prophylaxis. *Przeg Lek.* 2014; 71(supl.1): 35, abstr. 74. Międzynarodowa Konferencja Naukowa Studentów Uczelni Medycznych, Kraków, 10-12 kwietnia 2014; 2) Przeklasa A, Jakubik A, **Szczeklik K**, Pytko-Polończyk J. Pregnant women's awareness of dental care with regard to oral health prophylaxis. *Journal of Stomatology.* 2015; 68(6): 690-702. **Punktacja MNiSW: 12.**
5. Tytuł: "Ocena peroksydacji lipidów i stężenie wybranych antyoksydantów w ślinie i surowicy krwi pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna". Numer projektu: K/ZDS/007169. Lata 201-2019; udział habilitanta w projekcie – kierownik tematu. Projekt kontynuowany do końca roku 2019. Do tej pory ukazały się 3 publikacje oryginalne w efekcie realizacji tego projektu: 1) **Szczeklik K**, Krzyściak W, Cibor D, Domagała-Rodacka R, Pytko-Polończyk J, Mach T, Owczarek D. Markers of lipid peroxidation and antioxidant status in the serum and saliva of patients with active Crohn disease. *Pol Arch Intern Med.* 2018 Jun 30; 128(6): 362-370. IF: 2.658, **Punktacja MNiSW: 30**; 2) **Szczeklik K**, Mach T, Cibor D, Owczarek D, Sapa J, Papież M, Pytko-Polończyk J, Krzyściak W. Correlation of paraoxonase-1 with Crohn's disease severity. *Molecules* 2018 Oct 11; 23(10). pii: E2603. IF: 3.098, **Punktacja MNiSW: 30**; 3) **Szczeklik K**, Krzyściak W, Cibor D, Kozioł K, Poczta H, Pytko-Polończyk J, Mach T, Owczarek D. Evaluation of plasma concentrations of selected antioxidant parameters in patients with active Crohn's disease. *Folia Med Cracov.* 2018; 58(2): 119-130. **Punktacja MNiSW: 10.**
6. Tytuł "Występowanie erozji zębów u pacjentów z chorobą refluksową przełyku". Numer projektu: K/ZDS/008013. Projekt kontynuowany od 2017 roku; udział habilitanta w projekcie – współbadacz.
7. Tytuł "Znaczenie Mac-2 białka wiążącego (Mac2BP) w remisji i w zaostrzeniu nieswoistych zapaleń jelit. Numer projektu K/ZDS/007989. Projekt kontynuowany od 2018 roku; udział habilitanta w projekcie – współbadacz. Do tej pory dwie prezentacje konferencyjne: 1) Domagała-Rodacka R, Cibor D, **Szczeklik K**, Mach T, Owczarek D. 2018. Znaczenie Mac-2

białka wiążącego (M2BP) w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Zesz. Nauk. Tow. Doktorantów Uniw. Jagiell., Nauki Ścisłe 2018; 1: 35. VIII Konferencja Doktorantów Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum, Kraków, 19.05.2018; 2) Cibor D, **Szczeklik K**, Owczarek D, Mach T: Galectin-3, galectin-9 and galectin-3 binding protein in patients with inflammatory bowel diseases. 14th, Congress of ECCO, Copenhagen, Denmark, March 6-9, 2019; Journal of Crohn's and Colitis, 2019; 13/S1, s096, abstract P022.

### **Szkolenia z zakresu doskonalenia zawodowego (kursy oraz konferencje krajowe)**

1. Kurs "Periodontologia klasyczna", Kraków, 10.01.2003
2. Kurs "Praktyczny kurs scalingu i root planingu", Kraków, 11.01.2003
3. Kurs "Wprowadzenie w chirurgię periodontologiczną", Kraków, 12.01.2003
4. Konferencja Naukowo-szkoleniowa Saldent 2003, Poznań, 20-21.03.2003
5. Kurs "BLS-AED dla lekarzy stomatologów", Kraków, 2.12.2004
6. Kurs "Zachowanie i odbudowa naturalnych tkanek zęba", Kraków, 25.09.2010
7. Kurs "Postępy w periodontologii", Ryto, 21-23.10.2011
8. Szkolenie "Nowoczesne leczenie endodontyczne", Kraków, 10.03.2012
9. Kurs "The unique file: myth or reality?", Kraków, 30.03.2012
10. Podyplomowy kurs medyczny "Endodoncja II", Kraków, 14.04.2012
11. Kurs "Praktyczne zakładanie koferdamu", Kraków, 9.10.2012
12. Kurs doskonalący "Statystyka w biologii i medycynie", Kraków, 16-30.09. 2013
13. Kurs medyczny doskonalący "Ergonomia okiem praktyka", Kraków, 6.03.2014
14. Kurs OIL "Powikłania związane z usuwaniem zębów i ich leczenie", Kraków, 15.04.2014
15. Kurs OIL "Postępowanie w stanach nagłych w gabinecie stomatologicznym," Kraków, 22.04.2014
16. Kurs "Podstawowe i zaawansowane zabiegi resuscytacyjne", Kraków, 27.05.2014
17. Kurs "Statystyka w medycynie – przeprowadzony z wykorzystaniem środowiska obliczeniowego R", Kraków, 31.03-1.04.2016
18. Kurs "Graficzna prezentacja danych - przeprowadzony z wykorzystaniem środowiska obliczeniowego R", Kraków, 14.07.2016
19. Kurs medyczny – teoretyczny "Dental road show 2016", Kraków, 27.09.2016
20. Akademia kompozytu – moduł II, Kraków, 8-9.12.2017

*Katarzyna Szczeklik*

Kraków, 3 kwiecień 2019 r.

Dr n. med. Katarzyna Szczeklik